BROTÉRIA

SÉRIE TRIMESTRAL



CIÊNCIAS NATURAIS

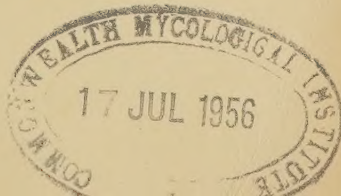


SUMÁRIO



MAIO-AGOSTO

VOL. XXV (LII) — LISBOA — FASC. II-III 1956



Propriedade e edição de
Gaspar Maria Leal Gomes
Pereira Cabral

Fundador: J. S. TAVARES
Director: A. LUISIER

BROTÉRIA

SÉRIE TRIMESTRAL

Composta e impressa no
CENTRO GRÁFICO
de José Casimiro da Silva
Av. Barão de Trovisqueira
Vila Nova de Famalicão

Redacção e Administração: Rua Maestro António Taborda. 14 — LISBOA

Avis importante: — Tout ce qui concerne la rédaction de cette Série doit être adressé, jusqu'à nouvel ordre, à *A. Luisier*, **Colégio — Caldas da Saúde — Portugal.**

CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO
DOS
LEPIDÓPTEROS DE PORTUGAL

POR

TEODORO MONTEIRO O. S. B.



Esta pequena lista de Lepidópteros novos para a Fauna portuguesa faz parte da colecção do Mosteiro de Singeverga, que é uma colecção quase exclusivamete regional, abrangendo, como área de exploração, a zona leste do Concelho de Santo Tirso.

Como ainda não terminamos o seu estudo e ordenação sistemática é de prever que nela se encontrem outras espécies desconhecidas, mormente nos *Microlepidópteros,* que estão representados por algumas centenas e cuja determinação está ainda quase por começar, já porque a nossa competência nesse grupo é muito escassa, já porque nos falta quase completamente a bibliografia adequada.

Aproveitamos o ensejo para dar à estampa alguns apontamentos sobre espécies que mais nos têm chamado a atenção, e incluímos 1 espécie e 1 subespécie novas para a Fauna mundial. As observações feitas no campo da Biologia não podem ser consideradas a última palavra, nem foi nossa intenção dizer tudo o que haveria a dizer sobre elas. A escassez do material não nos autoriza a tirar conclusões definitivas e, pelo mesmo motivo, não nos foi possível fazer uso dos gráficos demonstrativos, visto que estes só têm valor em proporção com o número de exemplares examinados. Esperamos, porém, voltar ao assunto logo que nos seja possível.

Na determinação dos espécimes citados nesta lista tivemos a valiosa colaboração de alguns especialistas estrangeiros, entre os quais destacamos os Senhores Doutores J. Bourgogne, Fr. Daniel, Ch. Boursin, H. G. Amsel e J. Seiler. O Rev. P.e Ramiro dos San-

tos Neves e a Senhora D. Maria Amélia da Silva Cruz prestaram-nos, também, preciosos serviços, pondo à nossa disposição a indispensável bibliografia.

Aqui lhes testemunhamos o nosso maior reconhecimento.

I — Rhopalocera

Fam. Satyridae

Pararge megera L. **ab. alberti** Obrth. 1 exemplar bem característico capturado em Janeiro. Na geração que aparece em Janeiro e Fevereiro é frequente encontrarem-se exemplares com tendência para a multiplicação das pintas. Alguns têm um ocelo a mais nas asas posteriores, tal como acontece com *Pararge aegeria punctata* Guss. Singeverga (Roriz), lugar das Penedas.

Epinephele jurtina L. Alguns ♂♂ e 1 ♀ com as características do tipo. Singeverga em Julho e Agosto.

Fam. Nymphalidae

Pyrameis atalanta L. **ab. bialbata** Cab. 1 exemplar capturado em Azurara (Vila do Conde). Agosto.

II — Heterocera

Fam. Zygaenidae

Subfam. Chalcosiinae

Procris jordani Naufock. 1 exemplar em Maio. Singeverga, junto à ermida da Senhora do Socorro.

Procris schmidti Naufock. Vários exemplares em Singeverga (Senhora do Socorro) e em S. Vicente da Chã, no concelho de Montalegre. Agosto.

Subfam. Zygaeninae

Zygaenida trifolii Esp. **ab. omni-confluens** n. c. (n. c. = = nomen collectivum). Esta aberração apresenta todas as pintas

vermelhas reunidas numa grande mancha, que ocupa quase toda a asa. Aberrações similares dão-se frequentemente no género *Zygaenida*, e por esse motivo VORBRODT (in Schemertterlinge der Schweiz, 1911) propôs para todas elas o nome colectivo **«omni-confluens»**. Julgamos que, quanto a *Z. trifolli*, ainda não foi citada em nenhuma parte esta aberração.

2 exemplares em Julho. S. Vicente da Chã.

Fam. ARCTIIDAE

Subfam. MICRACTIINAE

Ocnogyna latreillei Godt. **ssp. lusitanica** Vty. Montes sobranceiros a Singeverga; Abril e Maio. Aparece juntamente com a aberração *aurantiaca*. Não encontrámos a forma típica.

Phragmatobia fuliginosa L. **ssp. fervida** Stgr. 1 exemplar colhido em Agosto com todas as características desta subespécie. De resto, o Senhor Dr. Fr. DANIEL, do Museu Zoológico de Munich, notou em todos os exemplares da nossa colecção uma acentuada degenerescência para a forma *fervida*, sobretudo no que diz respeito à cor. Singeverga, à luz.

Phragmatobia fuliginosa L. **ab subnigra** Mill. 2 exemplares em Abril, à luz. Singeverga.

Euprepia pudica Esp. **ssp. magnifica** Rothsch. 1 exemplar em Agosto. Singeverga.

Euprepia pudica Esp. **ab. rosina** Zerny. 3 exemplares em Agosto. Singeverga.

Subfam. SPILOSOMINAE

Spilartia lubricipeda L. **ab. fasciata** Tugell. 1 exemplar em Junho. Serra da Agrela.

Fam. LYMANTRIIDAE

Lymantria dispar L. **ssp. disparina** Müll. 4 exemplares, à luz. Maio, Junho e Julho. Singeverga.

Fam. LASIOCAMPIDAE

Poecilocampa populi L. 3 exemplares, à luz, em Setembro e Outubro. Singeverga.

Lasiocampa trifolii Esp. **ssp. cocles** Hbn. 2 ♂♂ e 1 ♀ em Agosto e Setembro, à luz. Não temos a forma típica. Singeverga.

Fam. SPHINGIDAE

Mimas tiliae L. **ab. transversa** Tutt.
» » » **ab. lutescens** Tutt.
» » » **ab. virescens** Tutt. Todas estas aberrações se encontram em Junho e Julho com o tipo. Singeverga.

Fam. PSYCHIDAE

Subfam. PSYCHINAE

Oreopsyche colossa A. Bang-Haas (Figs. 2, 17 e 18). Esta espécie foi definitivamente separada de *Oreopsyche leschenaulti* Stgr. em 1954 pelo Dr. J. BOURGOGNE (*Revue Fr. d'Entomologie,* T. XXI, Fasc. 1 (1954), pág. 65-70). Efectivamente este especialista, baseando-se em abundante material por nós enviado, chegou à conclusão de que se trata de uma *bona species.*

O nosso Cândido Mendes cita no seu catálogo dos Lepidópteros dos arredores de S. Fiel *Oreopsyche leschenaulti.* É, porém, muito pouco provável que os exemplares por ele encontrados pertençam a esta espécie. De facto os exemplares que se encontram no Museu de Coimbra e que pertenceram à colecção do sábio jesuíta, parecem ser todos de *colossa.* O facto tem a sua explicação. Quando Cândido Mendes publicou o seu catálogo, ainda Bang-Hass não tinha apresentado a descrição da nova forma *colossa,* baseada precisamente em exemplares colhidos em Portugal por Emílio Biel, alguns anos mais tarde.

Somos, pois, de parecer que *Oreopsyche leschenaulti,* que tem figurado nos catálogos de Lepidópteros de Portugal, é certamente *Oreopsyche colossa,* espécie tìpicamente peninsular.

Como a lagarta e a fêmea de *O. colossa* ainda não foram descritas, por serem desconhecidas, e como nós tivemos a oportu-

nidade de as observar a ambas, permitimo-nos fazer aqui uma breve descrição das mesmas.

Lagarta—De 15 a 17^{mm} de comprimento (Fig. 2). Cabeça preta, sem desenho; no 1.° anel torácico, fundo preto mosqueado de branco de cada lado da linha mediana, também branca; no 2.° e 3.° anéis tor., fundo preto, linha mediana branca, e de cada lado desta, em sentido oblíquo, uma faixa branca, que mostra na extremidade anterior uma pinta escura; mais abaixo, para o lado da pata, uma mancha branca. Nos 1.°, 2.° e 3.° segmentos abdominais, fundo amarelo torrado, salpicado de lúnulas pretas e quitinadas; nos 4.°, 5.° e 6.° segmentos, fundo amarelo deslavado com as lúnulas quase imperceptíveis; últimos segmentos e placa anal escuros. O revestimento piloso não parece diferente do de outras espécies por nós conhecidas do género *Oreopsyche.*

Imago ♀ — Cabeça e região torácica amarelo torrado, levemente quitinado. O microscópio revela a presença de abundante pelugem sedosa. Patas rudimentaríssimas, não passando de cotos carnudos, encimados por um espinho quitinoso ou garra, sempre visível (ao microscópio) no 1.° par, mas nem sempre no 2.° e 3.°. Abdómen revestido de pelugem densa e esbranquiçada, sobretudo nos últimos segmentos e região anal. Não notamos a presença de escamas.

*

* *

Do ciclo evolutivo desta espécie e da sua biologia pouco conhecemos, porque temos procurado as lagartas já no seu último estágio. Observamos, todavia, em dezenas de exemplares a existência da *fase préninfal,* isto é uma peculiar mudança de pele antes da crisálida. Durante esta fase a lagarta apresenta-se com cor deslavada, sem desenho, quase sem pigmentação nem quitina. Esta fase só se dá nas lagartas de que hão-de sair imagines ♂♂.

Tivemos também ocasião de notar que a fêmea de *Oreopsyche matthesi* Brgne. exerce acentuada atracção sobre o macho de *O. colossa.* Normalmente, porém, a fecundação não é possível, porquanto, sendo *O. colossa* muito mais corpulenta do que

O. matthesi não consegue introduzir o abdómen na abertura posterior do casulo desta última. Esta afirmação é baseada em várias experiências em que nos foi dado observar as tentativas desesperadas de ♂♂ de *O. colossa.* Um macho desta espécie persistiu nessas tentativas durante 45 minutos. Procurei, então, obviar a esta impossibilidade, alargando, com cuidado, a saída posterior de vários casulos de *O. matthesi.* Constatei, então, que o mesmo macho que precedentemente tentara, em vão, a fecundação, não mais a tentou na presença da mesma fêmea. Posto, porém, em presença de outras fêmeas, em cujos casulos não havíamos tocado, recomeçou as baldadas tentativas, ao fim das quais morreu por completo esgotamento.

No dia seguinte preparei os casulos de algumas fêmeas antes de as pôr em presença dum macho que tinha feito a eclosão nesse mesmo dia. Este, logo que foi posto em presença das fêmeas, sentiu a atracção e desta vez conseguiu fecundar uma.

Esta fêmea não chegou a ter criação, porque foi vitimada por uma colónia de ácaros, que a atacou, assim como a todas as suas congéneres provindas de S. Vicente da Chã — Montalegre — e ainda a vários exemplares de *O. colossa.*

Constatei que um ♂, posto em presença de fêmeas cujos casulos estão intactos, e de outras cujos casulos foram «preparados», sente maior atracção para as primeiras.

Por falta de «material» não me foi possível fazer a experiência ao invés, isto é, com ♂♂ de *O. matthesi* e ♀♀ de *O. colossa.*

Habitat: S. Vicente da Chã (Montalegre). A Senhora D. Maria Amélia da Silva Cruz encontrou-a também em Carvalhelhos. Vive no tojo, na torga e na urze.

Oreopsyche colossa B. H. **ssp. melanura** Brgne. *nova ssp.* para a Ciência (Figs. 16 e 19). Esta nova subespécie foi também estudada e classificada pelo Senhor Dr. J. Bourgogne, baseando-se em abundante material por nós enviado (Cf. *op. cit.*, págs. 70 e 71). As diferenças constatadas entre ela e *Oreopsyche colossa* são de tal ordem, que há sérias razões para duvidar se se trata de uma subespécie ou antes de uma *bona species.*

Esta forma caracteriza-se pela sua coloração preta, ao contrário de *O. colossa* cuja pilosidade é de um belo branco sedoso.

A par desta diferença registam-se outras não menos importantes: a pilosidade abdominal, sobretudo o tufo anal, é muito mais curta em *melanura* do que na forma típica — quase metade; o tamanho de *melanura*, tanto no que diz respeito ao casulo como à lagarta e à borboleta, é mais reduzido, como se deduz dos quadros seguintes:

colossa:	**melanura:**
lagarta — de 15 a 17 mm.	lagarta — 12,5 a 14 mm.
crisálida ♂ — 9 a 10 mm.	crisálida ♂ — 6,5 a 8 mm.
imago ♂ — 18 a 22 mm.	imago ♂ — 18 a 19 mm.
casulo ♂ { comp. — 20 a 31 mm.; diâmetro — 4 a 6 mm.	casulo ♂ — { compr. — 21 a 24 mm.; diâmetro — 3,7 a 4,5 mm.

Como todos os exemplares foram encontrados ou já em crisálida ou próximo da metamorfose, as diferenças constatadas são indubitàvelmente características. Frizamos particularmente este facto, atendendo a que o Senhor Dr. J. Bourgogne se mostrou hesitante na apreciação das médias indicadas, por julgar que se tratava de animais criados em casa.

Estas duas formas parecem excluir-se geogràficamente, porquanto todas as buscas efectuadas com o fim de encontrar *O. colossa* no *Habitat* de *melanura*, foram infrutíferas. A constituição do solo poderia ter certa influência na exclusão, atendendo a que todos os lugares em que, em Portugal, *O. colossa* foi encontrada são de terrenos graníticos, ao passo que as duas estações em que encontrámos a forma *melanura* são de solo xistoso, estando incluídas na comprida mancha silúrica que, partindo da margem inferior do rio Douro, passa quase pelo centro do concelho de Santo Tirso, atravessa a região de Entre Douro e Minho e vai terminar quase na praia de Esposende.

Para aumentar o casulo a lagarta de *melanura* ajunta-lhe terra e areia fina, enquanto a parte anterior dele se encontra um pouco mergulhada, excluindo, portanto, a possibilidade de qualquer observação rigorosa. Não usa o processo de perfuração lateral empregado pelas lagartas, que têm casulos de palha, para colar, os pequenos fragmentos vegetais, que o revestem. *O. melanura* como não tem de revestir o seu, limita-se a acrescentar-lhe a abertura anterior. A parte acrescentada de novo torna-se muito notória

pelo seu volume e aspereza, porque fica muito mais grossa do que o resto do casulo, parecendo formar à frente uma espécie de juba. Depois, com o contínuo roçar do casulo é que esta parte se torna lisa e igual ao resto.

A lagarta de *melanura* passa pela *préninfose*, tal como *O. colossa*. Geralmente a fixação do casulo para fazer a muda préninfal não é definitiva, de modo que é vulgar verem-se as lagartas em actividade durante esta fase. A fase préninfal é extremamente curta, não ultrapassando 3 dias. De resto, toda a evolução da última metamorfose é muito mais rápida do que em outras espécies, que passam também pela préninfose. Entre a fixação para a muda préninfal e a *imago* há apenas um intervalo de 22 dias, enquanto que na *Psyche constancella* Brd., por exemplo, este intervalo é aproximadamente de 70 dias. Nos exemplares por nós observados a primeira fixação deu-se de 15 a 26 de Julho e a *imago* fez a eclosão de 4 a 12 de Agosto.

A morfologia externa da crisálida e da fêmea e o desenho da lagarta não apresentam diferenças notáveis, relativamente ao que foi observado em *O. colossa*.

A lagarta, na fase préninfal, pode ainda tecer e remendar o casulo.

Habitat: Serra da Agrela (concelho de Santo Tirso), junto à estrada de Paços de Ferreira — Porto; monte de S. Miguel-o-Anjo (concelho de Valongo), junto da ermida deste nome; Carvalhelhos (1 exemplar colhido pela Senhora D. Maria A. da Silva Cruz).

Vive na torga e no tojo.

Psyche constancella Brd. (Figs. 1, 3, 14 e 15). A criação desta espécie em cativeiro apresenta dificuldades quase insuperáveis. A lagarta sai do casulo materno no fim de Maio e princípios de Junho. É então preta e sem desenhos. Cresce ràpidamente nos meses de Julho e Agosto, e é durante este último que aparecem os desenhos típicos da espécie, que se vêem na Fig. 3. Em Setembro atingem o tamanho normal — 15^{mm} (casulo 20^{mm}). Pelos fins de Setembro começa a hibernação intermitente, isto é, largos períodos de inacção, intermeados de alguns dias de actividade. Aqueles quase sempre coincidem com as temperaturas baixas, e estes, ao contrário, com a temperatura mais amena da quadra invernal.

Todos os animais criados por nós têm morrido nos meses de Dezembro e Janeiro. Temos, porém, capturado em fins de Janeiro lagartas criadas em liberdade e com estas conseguimos perfazer o ciclo evolutivo da espécie.

Ao começarem as temperaturas amenas de Fevereiro o comportamento das lagartas ♂♂ e das lagartas ♀♀ é nìtidamente diverso.

A lagarta ♂ fixa-se definitivamente na primeira metade de Fevereiro; mas antes disso acaba o «*tubo de saida*», começado antes do período de diapausa. Este tubo sedoso existe sempre nos casulos dos ♂♂, e por ele se pode saber, antecipadamente e com segurança, o sexo das *imagines*. É também antes da fixação definitiva que a lagarta tece à volta do casulo um delicado véu de seda, que existe sempre nos dois sexos. Para esse efeito a lagarta fixa o casulo apenas com alguns fios; depois sai dele quase completamente e, ora de um lado, ora de outro, vai-o cobrindo de seda. Geralmente reveste primeiro a parte anterior do casulo; a seguir entra no casulo e vai aparecer no orifício posterior, por onde sai também quase completamente, fazendo na metade posterior o mesmo véu.

Feito isto, portanto, a lagarta fixa-se definitivamente. Permanece imóvel e virada para o orifício anterior. Ao cabo de 9 dias, em média, faz a muda préninfal. A pele largada nesta ocasião, fica invariàvelmente agarrada ao tubo de saída, pelo lado de fora. A lagarta mostra então a típica cor deslavada da fase préninfal, permanecendo, todavia, com um pouco mais de pigmentação do que a préninfa de *Amicta febretta* Boyer. A préninfose dá-se em meados de Fevereiro e dura aproximadamente 25 dias. Na primeira metade de Março passa à fase de crisálida.

Durante todo este período as lagartas fêmeas permanecem em actividade e é sobretudo da parte de manhã, isto é, das 7,30 às 12 horas, que elas se mostram mais activas. Depois do meio dia fixam-se frouxamente e vão tecendo pouco a pouco o véu de seda a que já nos referimos. A fixação definitiva só se efectua entre 15 e 25 de Março. Passados 8 dias estão em crisálida, sem ter passado pela préninfose. Os seguintes quadros mostram bem as divergências notadas nesta última parte do ciclo evolutivo dos dois sexos:

Fixação	*Préninfa*	*Crisálida*	*Imago*
♂♂ — 28, I a 13, II	♂♂ — 8 a 22, II	♂♂ — 7 a 15, III	♂♂ — 4 a 17, IV
♀♀ — 18 a 24, III	♀♀ — não têm	♀♀ — 26, III a 1, IV	♀♀ — sincronismo

Intervalos médios:

♂♂: — entre 1.ª fixação e préninfa, 8 a 10 dias
entre préninfa e crisálida, 20 a 29 dias
entre crisálida e imago, 18 a 25 dias

♀♀: — entre fixação e crisálida, 5 a 8 dias
entre crisálida e imago, 8 a 16 dias.

Destes quadros se deduz que os ♂♂ dão início à última metamorfose aproximadamente 45 dias antes das ♀♀. Nos ♂♂ o espaço entre a 1.ª fixação e a préninfa é quase igual ao que, nas ♀♀ medeia entre a fixação e a crisálida; porém, o intervalo entre a crisálida e a imago é muito desigual nos dois sexos, visto que os ♂♂ exigem o dobro do tempo requerido para as ♀♀, diferença, aliás, compreensível, atendendo à morfologia muito mais complexa dos ♂♂. Deste modo o facto da não existência, nas ♀♀, da fase préninfal entra como factor das diferenças verificadas, mas não como factor único.

O processo da formação da escadinha sedosa utilizada pela lagarta para caminhar em superfícies lisas está suficientemente estudado pelo Ex.mo Senhor Prof. Dr. Ernst Matthes. Se abordamos aqui este assunto é simplesmente para dizer que a lagarta de *Psyche constancella* emprega o mesmo processo, mas parece possuir um sentido de adaptação muito notável e que, quanto a ela, pelo menos, a construção da escada parece obedecer a uma necessidade ocasional e não estar sujeita a uma força instintiva que a leve a fazer a escadinha sempre que tenha de se deslocar e sobretudo de trepar. Queremos dizer que se a lagarta, depois de muitas andanças suas e de suas companheiras, encontrar uma superfície já suficientemente revestida de baba sedosa, que lhe sirva de apoio, já não fará mais uso da sua capacidade secretora. Constatamos isto em dois animais e em duas ocasiões diferentes, observando com grande surpresa, a rapidez com que, em tais circunstâncias, elas trepavam e desciam.

Não é menos notável a posição que elas dão ao corpo e ao casulo para descer superfícies fortemente inclinadas. A Fig. 14 é bastante ilucidativa acerca dessa posição. A lagarta está orientada para baixo e tem fora do casulo o tórax e parte do abdómen.

O casulo está também caído para baixo porque a lagarta o não pode manter erguido, e assim ela encontra-se fortemente arqueada. Vai tecendo a escada, à qual se apoia sobretudo com o último par de patas. Não desce verticalmente, mas seguindo uma linha ligeiramente oblíqua.

A lagarta fixa o casulo em posição oblíqua com relação ao suporte. Mesmo no caso de um suporte horizontal suspenso se observa a mesma posição, apesar de a posição natural, em tal caso, ser a vertical. A lagarta dar-lhe-á a posição oblíqua por meio de alguns fios que o segurarão, lateralmente, ao suporte. Esta posição parece ser exigência específica e não casual, se alguma coisa nos for lícito concluir da seguinte observação: uma lagarta fixou o casulo a um graveto tão baixo que ele tocava o chão e ficava automàticamente em posição oblíqua. Poderia supor-se que a lagarta se desse por satisfeita, mas não. Foi ainda segurá-lo de lado, tal como a outra o havia feito no caso do suporte horizontal e alto. Em liberdade a posição mais constante é a oblíqua, notando-se sempre a presença dos fios laterais a segurar. Todavia encontram-se alguns, sobretudo de fêmeas, colocados horizontalmente.

Não se pode afirmar que *Psyche constancella* siga, na colocação dos gravetos que revestem o casulo, um processo sempre rigorosamente igual. Tadavia um corte transversal, operado no casulo, faz aparecer bastante nìtidamente a figura geométrica que se vê na Fig. 15. Se a lagarta mantivesse o mesmo rigor de linhas durante a formação de todo o casulo, este ostentaria naturalmente uma forma exterior geomètricamente bem definida. Mas tal não sucede em geral, porque a lagarta ao ajuntar uma nova ordem de gravetos já os não coloca, com relação aos de trás, em linha paralela rigorosa, mas um pouco oblìquamente. É por este motivo que o aspecto exterior do casulo se apresenta de linhas bastante confusas. No entanto, cada fileira de gravetos parece obedecer às linhas constantes da Fig. 15, de modo que um corte bem feito, operado em qualquer parte do casulo, terá por efeito o aparecimento, mais ou menos nítido, da indicada figura geométrica.

A lagarta vive no *tojo* e na *queiroga* (torga).

Habitat: montes sobranceiros ao Mosteiro de Singeverga; Citânia de Sanfins (Paços de Ferreira); monte da S.ª do Amparo

(Covas-Freamunde); Azurara (V. do Conde); arredores do campo de aviação de Pedras Rubras.

Subfam. Fumeinae

Fumea casta Pall. 1 exemplar *ex larva*.

A lagarta foi encontrada sobre um muro musgoso, na companhia de *F. crassiorella* Brd. que é muito abundante nesta região.

Maio. Singeverga.

Subfam. Talaeporiinae

Talaeporia tubulosa Retz. (Figs. 4, 5, 6 e 7). A lagarta é frequente nos muros velhos, musgosos e húmidos, pouco expostos ao sol, onde vive em companhia de *Bankesia staintoni* Wlsghm. Também se encontra nos troncos das árvores, particularmente carvalhos e cerejeiras.

Nunca conseguimos criá-la desde o ovo, e o tempo de que precisa para perfazer o ciclo evolutivo ainda constitui para nós uma questão bastante confusa. De facto, todas as borboletas que temos conseguido são provenientes de lagartas encontradas no seu último estágio, no mês de Abril, saindo a imago ainda no mês de Abril e durante a primeira metade de Maio. Ora em Abril de 1950 os únicos 4 exemplares que encontrámos estavam ainda tão pouco desenvolvidos que julgamos até tratar-se de outra espécie. Mediam apenas um terço do tamanho normal e isto numa época em que já deviam ter atingido o crescimento total, para crisalidar. Criadas em cativeiro, só deram borboletas (1 ♂ e 3 ♀♀) em Maio do ano seguinte. O ♂ apresenta todas as características de *T. tubulosa* e como tal o consideramos. Encontradas em Abril, já com algum desenvolvimento, é evidente que não eram geração daquele ano, visto que as lagartas novas desta espécie costumam sair do ovo só em princípios de Junho. O facto podia ter duas explicações, ambas prováveis: ou se tratava de exemplares cujo crescimento se tinha atrasado anormalmente, ou então a espécie precisa de dois anos para perfazer o ciclo vital.

Consultámos o Dr. J. Seiler (Zurich, Suíça) especialista de *Micropsiquídeos*, que estudou também *T. tubulosa*. Sua Excelência

respondeu-nos que não teve ocasião de averiguar o caso, mas que lhe não parece impossível. A *T. tubulosa bavaralta* Sieder precisa apenas de um ano; mas já a *T. tubulosa ssp. austriaca* Prob. precisa de mais de um ano. Com *Solenobia lichenella* observou aquele especialista que alguns exemplares levaram um ano e outros levaram dois. Ordinàriamente a *Solenobia triquetrella* precisa de dois anos.

Para já, o que parece mais verosímil, embora não passe de uma hipótese, é que com *T. tubulosa* se dê a mesma coisa que foi averiguada com *Solenobia lichenella*: isto é, que na mesma geração pode haver exemplares que perfaçam o ciclo evolutivo num ano, e outros que precisem de dois.

As lagartas referidas foram crescendo lentamente durante os 6 meses seguintes e só em Novembro atingiram o tamanho normal da espécie. Como alimento aceitaram muito bem o *musgo* vulgar. Aumentaram o casulo com terra, que iam procurar ao torrão de que emergia o tufo de musgo. Todavia o processo de conglutinação da terra com a baba sedosa, de modo a formar a película resistente e um tanto pergaminácea do casulo, não nos é possível explicá-lo.

A diferença de material empregado em liberdade e o empregado em cativeiro deu aos casulos duas cores bem distintas: a primeira bastante clara; a segunda muito carregada. Em liberdade, o material empregado não é sempre o mesmo para todos os indivíduos, mas é condicionado pelo *habitat* individual. Deste modo uma lagarta que vive num muro velho e húmido empregará, geralmente, terra, e o seu casulo será escuro; pelo contrário, uma lagarta que vive no tronco de uma *cerejeira* empregará fragmentos da casca da mesma, triturados pelas mandíbulas e conglutinados com a baba. Este casulo ficará com a cor muito mais clara. Dois casulos encontrados no Gerez no tronco de um *vidoeiro* são quase brancos.

As mesmas 4 lagartas, para aumentar o casulo, enterravam um pouco o orifício anterior e nesta posição é que faziam novas adjunções. Como é óbvio, nesta posição era-nos absolutamente impossível observar o processo empregado. É natural que em liberdade o processo não seja o mesmo, sobretudo com relação às lagartas que vivem em troncos de árvores. No entanto convém notar-se que

o processo não é inédito, visto que também o observamos em *Oreopsyche colossa*, como já foi referido.

A partir de Novembro começaram os períodos de diapausa intermitente, que só terminou em fins de Março. Neste mês recomeçaram a actividade normal. Crisalidaram nos primeiros dias de Maio e as imagines fizeram a eclosão entre 15 e 20 do mesmo mês. Em dezenas de exemplares, colhidos já próximo da fase de crisálida, temos notado que esta fase dura 15 a 20 dias. A eclosão dá-se geralmente de madrugada e às vezes ainda muito de noite. Um exemplar em 1953 fez a eclosão ao cair da noite.

Depois de fecundada a fêmea sai do casulo, mas fica invariàvelmente agarrada a ele numa posição muito arqueada e mantendo dentro dele apenas o comprido oviducto. No momento de fazer a eclosão arrasta para fora a exúvia crisalidal, que fica tão saída como a do macho. Os ovos são postos não dentro da exúvia, mas dentro do casulo. Pode todavia observar-se uma eventual postura fora do casulo de ovos fecundados. Os ovos são envolvidos em abundante pelugem que a mãe arranca do abdómen e região anal.

A fêmea mostra a presença de asas, rudimentares, é certo, mas bem visíveis à vista desarmada (Fig. 7). As antenas são muito compridas, caídas para trás e atingem a extremidade posterior do 3.° anel torácico. As três ordens de patas são perfeitamente desenvolvidas. O corpo é revestido de raras escamas lanceoladas de cor branca, e a região anal é densamente coberta de pelugem ou escamas filiformes de cor castanho assetinado. Possui oviducto composto de quatro articulações reentrantes.

A lagarta sai do ovo aproximadamente 20 dias depois da postura. O casulo inicial com que então se cobre é feito da pelugem materna. Tivemos ensejo de o observar numa só ocasião, mas o facto de as várias dezenas de lagartas, que constituíam aquela geração, ter procedido idênticamente leva-nos a supor que se trata de prática constante e rotineira da espécie.

Habitat: Singeverga; S. Vicente da Chã (Montalegre); Serra do Gerez; Penamaior (Paços de Ferreira) e Azurara (Vila do Conde).

Subfam. NARYCHINAE

Narycia monilifera Geoffr-Fourer. Colhemos, até agora, apenas um exemplar ♂ desta espécie, nova para a Península, se não estamos em erro. Não conhecemos ainda o seu casulo mas como ele é muito parecido com o de *Bankesia staintoni* Wlsghm. e como esta espécie é muito frequente nos arredores de Singeverga é provável que ele se encontre na nossa colecção confundido com os desta espécie.

Devemos a sua determinação ao Senhor Prof. Dr. J. SEILER da Universidade de Zurich, especialista no estudo das *Micropsychidae*.

Habitat: Mata de Codessos (Mosteiro de Singeverga) pousada no tronco dum sobreiro, em 11 de Maio de 1951.

Fam. AEGERIIDAE

? **Bombecia hylaeiformis** Lasp. 1 exemplar que não pôde ser determinado com segurança, por lhe faltar a cabeça. Sem data. Singeverga.

Synanthedon myopaeformis Rkh. 3 exemplares em Maio. Singeverga.

Dipsophecia uroceriformis Tr. 2 exemplares em Julho. Singeverga.

Chamaesphecia anellata Z. 4 exemplares em Junho. Singeverga.

Chamaesphecia aerifrons Z. Vários exemplares no lugar da Ponte de Vau (S. Martinho do Campo). Junho.

Fam. NOCTUIDAE

Subfam. METACHROSTINAE

Chryphia (Bryophila) pallida Beth-Baker. Espécie distinta de *algae*, embora muito parecida com a sua aberração *degener*.

Chryphia (Brioph.) pallida B.-B. **ssp. pseudalgae** Brsn. 3 exemplares, que foram examinados pelo Senhor Dr. Ch. BOURSIN, autor da subespécie. Tanto a f. típica como a subespécie aparecem em Julho e Agosto. Singeverga, à luz.

Bryophila (Metachrostis) ravula Hbn. **ssp. ereptriculoides** Brsn. Esta forma foi descrita pelo Dr. Ch. Boursin em 1952 (cf. Sonderdruck aus Z. f. Lepidopt. II, pág. 67) como originária de Espanha. É muito parecida com **M. ravula ereptricula,** que é originária da Europa oriental e da Ásia Menor e tem, por isso, poucas probabilidades de existir em Portugal. Os nossos exemplares foram examinados pelo autor da nova *forma*.

Bryophila (Met.) perloides Guén. **ssp. perlina** Stgr. 2 exemplares em Lamego e 1 em Singeverga. Agosto. À luz.

Subfam. Euxoinae

Euxoa endogaea Bsd. 1 exemplar em Agosto. Azurara.

Euxoa puta Hbn. **ab. renitens** Hbn.
» » » **ab. obscura** Tutt. Estas duas aberrações aparecem em Março e Abril; porém *obscura* é muito rara. Singeverga. À luz.

Subfam. Agrotinae

Agrotis (Euxoa) trux Hbn. **ssp. rubrofusca** Schaw. 1 exemplar sem data. Singeverga.

Rhyacia subsequa Schiff. **ab consequa** Hbn. 1 exemplar sem data. Singeverga.

Rhyacia orbona L. **ab. grisea** Tutt. Singeverga. Agosto.

Rhyacia saucia Hbn. **ab. nigrocosta** Tutt. 2 exemplares. Julho. Singeverga. À luz.

Subfam. Cucullianae

Agriopis aprilina L. 1 exemplar sem data. Singeverga.

Conistra rubigo Rbr. 8 exemplares. Fevereiro e Março. Singeverga.

Esta espécie foi separada de *C. rubiginea* F. da qual difere por alguns caracteres, sobretudo pelos genitalia. Os nossos exemplares foram examinados pelo Dr. Boursin, que, como se vê em A. Seitz (Supl. 3 pág. 150) foi daqueles que melhor estudaram esta

espécie. Seria interessante saber se *C. rubiginea* também existe no nosso país.

Conistra rubigo Rbr. **ssp. joanisi** Henriot. 2 exemplares em Fevereiro. Singeverga.

Esta subespécie de *rubigo* corresponde à forma *graslini* de *rubiginea*.

Amathes blidaensis Strtz. 1 exemplar sem data. Singeverga.

Subfam. AMPHIPYRINAE

Oligia (Procus) strigilis Cl. **ssp. aethiops** Osth. 3 exemplares em Maio. Singeverga. À luz.

Athetis ingrata Stgr. 1 exemplar capturado em Setembro. Lamego.

Subfam. NOCTUINAE

Tathorhyncus exsicata Led. 1 exemplar em Novembro, à luz. Singeverga.

Fam. GEOMETRIDAE

Subfam. ACIDALIINAE

Acidalia imitaria Hbn. **ab umbrata** Dufr. 1 exemplar em Maio, à luz. Singeverga.

Subfam. LARENTIINAE

Lythria purpurata L. **ab confluens** Oberth. 2 exemplares em Março. Singeverga.

Eupithecia vulgata Haw. 1 exemplar em Maio, à luz. Singeverga.

Subfam. GEOMETRINAE

Ennomos fuscantaria Steph. **ab perfuscaria** Rbl. 2 exemplares em Novembro, à luz. Singeverga.

Ennomos autumnaria W. 1 exemplar em Setembro, à luz. Singeverga.

Itame contaminaria Hbn. 1 exemplar em Maio, à luz. Singeverga.

Aspilates gilvaria Schiff. 1 exemplar em Julho. S. Vicente da Chã (Montalegre).

Fam. Tineidae

Dysmasia lusitaniella Amsel, nova espécie.

Por nos ter sido impossível determinar esta espécie, enviámo-la ao Senhor Dr. H. G. Amsel, especialista de Microlepidópteros, o qual, após minucioso exame, chegou à conclusão de que se tratava duma espécie ainda não descrita. Por isso, a nosso pedido, este especialista deu-se ao trabalho de a estudar e a sua descrição original foi publicada em 1955 in-*Beiträge zur naturkundlichen Forschung in Sudwestdeutschland,* Vol. xvi, Parte 2, pág. 130-131, Karlsruhe — Alemanha.

É uma espécie que se distingue imediatamente pela sua pequenez — 5,5 a 6,5 mm. A sua posição sistemática dentro do género *Dysmasia* não pôde ser bem definida por falta de suficiente material de outras espécies para confronto, mas, atendendo a que a sua nervação é idêntica à da espécie *Dysmasia petrinella* H. S. é junto dela que deverá ser colocada.

A descrição do desenho e da cor do fundo foi cuidadosamente feita e vamos reproduzi-la na sua parte mais importante:

«Esta pequena espécie tem uma faixa transversal amarelada a 1/3, mais ou menos interrompida e que em parte se pode fragmentar em manchas opostas. A segunda faixa, que parte do *Tornus* para a *Costa,* em 3/4 é quase paralela à primeira, um tanto oblíqua e dirigindo-se para fora, apresentando-se muitas vezes como faixa dupla. Entre as duas faixas pode ainda haver pequenas escamas amareladas. No *Apex,* uma ou duas escamas amareladas, franjas um pouco mais claras que a cor do fundo. Asas posteriores uniformemente escuras, franjas com linhas divisórias dificilmente perceptíveis. Faces inferiores dos dois pares de asas escuras e sem desenhos, apenas na *Costa* da asa anterior vestígios muito apagados da segunda faixa transversal. Tarsos com faixas amareladas. Abdómen escuro, na ♀ com lanugem anal forte e ovipositor claramente visível. As nervuras das asas correspondem essencialmente àquilo que Mees in Spuler pág. 458 indica para *Dysmasia petrinella* Hs. Na asa anterior não posso, é certo, enconcontrar nenhuma nervura curva, raiz das outras, r 3 e r 4 + 5 partem do mesmo ponto e r 1 está mais perto de r 2 que em «*petrinella*».

A lagarta é de cor castanho roxeado e não apresenta desenhos nenhuns nos anéis torácicos. Vive dentro de um casulo de forma triangular, muito parecido com os que se observam em espécies dos

géneros *Narycia*, *Bankesia* e *Solenobia*, embora o de *Dysmasia lusitaniella* seja bastante mais fino e alongado do que o de qualquer espécie conhecida desses géneros. O lado que roça pelo chão é chato, enquanto que os dois outros são côncavos. Nas arestas dos ângulos encontram-se fragmentos consideráveis tanto vegetais como minerais e até animais. Destes últimos notam-se pedaços da pele largada pela própria lagarta e por outros insectos inclusive pequenos *Coleópteros*.

A lagarta de *Dysmasia lusitaniella*, mesmo tendo à vista a planta de que se alimenta, pode ser carnívora. De facto, tivemos ocasião observar uma lagarta a devorar uma crisálida de outra espécie. Esta constatação não nos surpreendeu, visto que cenas idênticas já as tínhamos observado, por várias vezes, com *Fumea crassiorella* Brd. Nesta última o caso pode dar-se mesmo com lagartas recém-nascidas, porquanto notamos, em certa ocasião, uma dezena delas a devorar fêmeas da mesma espécie, que haviam morrido fora do casulo. Uma fêmea de *T. tubulosa* Retz. teve idêntica sorte. As lagartas adultas têm o mesmo instinto, a julgar pelo facto de em Maio de 1954 uma lagarta bem desenvolvida ter devorado o corpo de uma borboleta já seca. Todavia, parece que, quanto a *F. crassiorella*, estas demonstrações só se verificam quando falta o alimento apropriado, ao contrário daquilo que foi visto com *D. lusitaniella*. No entanto somos de parecer que, no que respeita a esta última, o fenómeno precisa de mais amplas provas, porque foi notado uma só vez e só com uma lagarta.

Na *F. crassiorella*, o caso mereceu-nos toda a atenção e procuramos particularmente ver se as lagartas estavam a retalhar o cadáver para aproveitar apenas os fragmentos como material de construção do casulo. Esta hipótese não se verificou, notando-se, pelo contrário, cenas de necrofagia evidente.

Vive nos muros húmidos, não expostos ao sol, em companhia de *Bankesia staintoni* Wlsglm., com a qual se pode confundir na fase larval. Conserva-se sempre perto do solo, trepando muito pouco.

Crisalida a partir dos meados de Maio e a borboleta sai pelos fins do mesmo e durante todo o mês de Junho. A eclosão da borboleta dá-se de manhã, entre as 9 e as 12 horas.

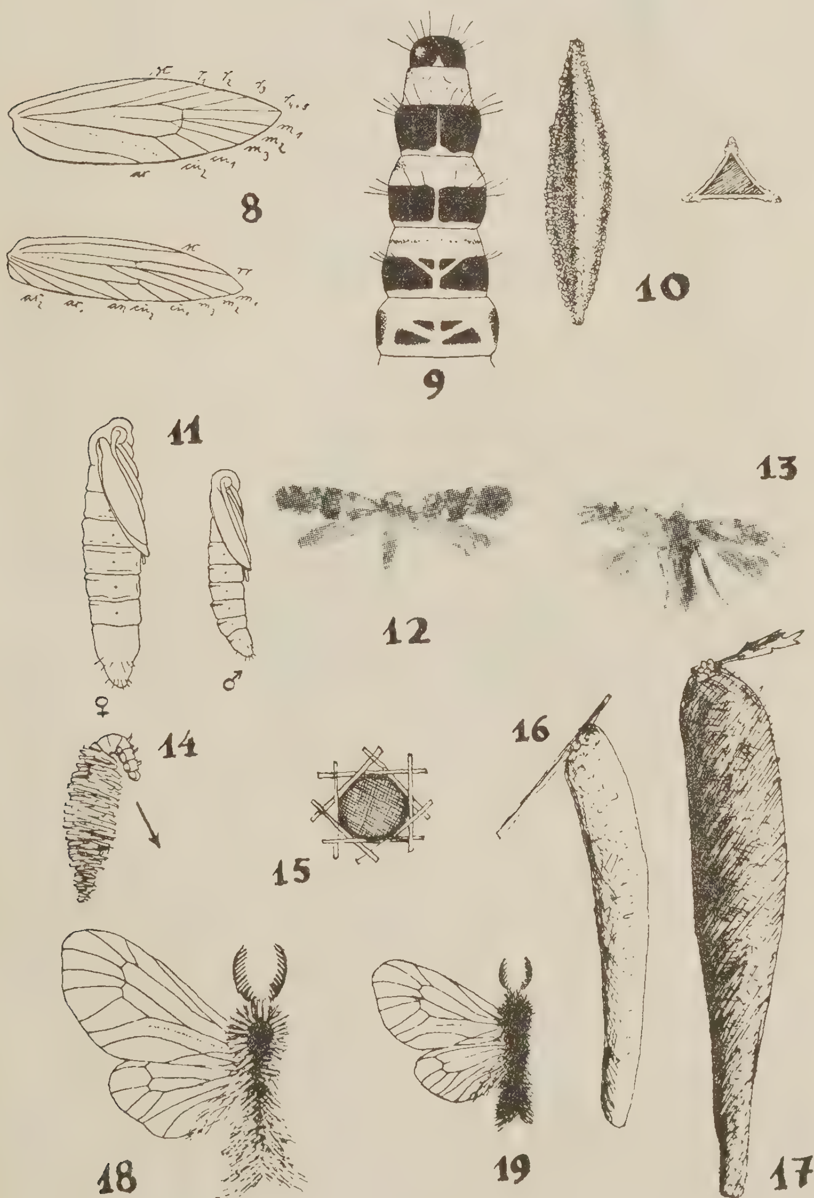
Material estudado: 18 ♂♂ e ♀♀.

Habitat: Cerca do Mosteiro de Singeverga — Roriz.

ESTAMPA I



ESTAMPA II



ESTAMPA I

FIG. 1 — Casulo de *Psyche constancella*, X 2,5.
FIG. 2 — Lagarta de *Oreopsyche colossa*, X 6,4.
FIG. 3 — Lagarta de *P. constancella*, X 5,2.
FIG. 4 — Lagarta de *Talaeporia tubulosa*, X 13,5.
FIG. 5 — Casulo de *T. tubulosa*, X 3.
FIG. 6 — Crisalida ♀ de *T. tubulosa*, X 6.
FIG. 7 — Imago ♀ de *T. tubulosa*, X 6,5.

(Desenhos de D. José Matoso, monge de Singeverga).

ESTAMPA II

FIG. 8 — Nervuras de *Dysmasia lusitaniella*.
FIG. 9 — Lagarta de *D. lusitaniella*, X 15.
FIG. 10 — Casulo de *D. lusitaniella*, X, 5,5.
FIG. 11 — Crisalida ♀ e ♂ de *D. lusitaniella*, X 7.
FIGS. 12 e 13 — ♂ e ♀ de *D. lusitaniella*, X 5,5 (fot. de H. G. AMSEL).
FIG. 14 — *Psyche constancella* na sua maneira típica de descer.
FIG. 15 — Corte transversal esquemático do casulo de *P. constancella*.
FIG. 16 — Casulo de *Oreopsyche colossa ssp. melanura*, X 2,2.
FIG. 17 — Casulo de *Oreopsyche colossa*, X 2,5.
FIG. 18 — ♂ de *O. colossa*, X 2,5.
FIG. 19 — ♂ de *O. colossa melanura*, X 2.

(Desenhos de D. José Matoso).

CEPHALOSPORIUM LECANII ZIMM.

UM FUNGO ENTOMÓGENO DE COCHONILHAS

POR

J. F. PINTO GANHÃO

Eng.º Agrónomo do Laboratório de Patologia Vegetal
«Veríssimo de Almeida» (Lisboa)

CAPÍTULO I

Revisão Histórica — Generalidades

Segundo parece, foi Bassi de Lodi (Sweetman, 1936), que em 1835, demonstrou pela primeira vez que uma doença nos bichos da seda foi provocada por um fungo que se desenvolvia e multiplicava no corpo do insecto. Porém, até ao ano de 1874, em que Pasteur preconizou o emprego dos fungos na luta contra a filoxera da videira, o estudo destes microorganismos só havia preocupado o mundo científico sob o ponto de vista da sua sistemática. A partir desta época, procurou-se então melhorar os conhecimentos sobre a etiologia e epidemiologia das doenças infecciosas, de molde a estabelecer as relações que existem entre o parasita e o seu hospedeiro.

Por outro lado, a prodigiosa propagação dos fungos e a facilidade de, por meio de cultura laboratorial, aumentar extraordinàriamente o seu número, fizeram vislumbrar a possibilidade da sua aplicação prática.

Os primeiros trabalhos de aplicação de fungos na destruição de insectos foram realizados por Metchnikoff, na Rússia, em 1879. Durante as suas investigações sobre o insecto *Anisoplia austriaca* Hbst, isolou deste, um fungo bastante virulento, *Metarrhizium anisopliae* Metch. que posteriormente encontrou parasitando o *Cleonus punctiventris* Ger. que nesse tempo constituía uma séria praga nos campos de beterraba. Metchnikoff desenvolveu métodos

de cultura do fungo em meios artificiais, principalmente em cerveja não fermentada e mais tarde viu os seus esforços coroados de êxito pela infecção de ambos os insectos mercê da propagação artificial do fungo. Pela mesma época, o cientista russo CIENKOWSKY desenvolveu outro método prático de obtenção de esporos em grande quantidade, colocando larvas infectadas em caixas com terra misturada com os despojos ressequidos e pulverizados dos corpos larvares. O material assim obtido era em seguida espalhado sobre os campos a fim de infectar os insectos.

KRASSILSTSCHIK (1886, 1893), da Universidade de Odessa, utilizou os métodos de METCHNIKOFF e CIENKOWSKY e fundou um laboratório especial com o fim de produzir esporos de fungos em larga escala.

Os trabalhos destes investigadores repercutiram-se noutros países da Europa e da América, chamando extraordinàriamente a atenção para as vantagens económicas da sua aplicação. Assim, em França, LE MOULT (1890-91, 1912), descobriu um fungo patogénico do insecto *Melolontha vulgaris* Fabr. que GIARD em 1892 descreveu sob o nome de *Isaria densa*.

Nos Estados Unidos, SNOW (1890), FORBES (1895, 1896) e outros verificaram que a *Beauveria globulifera* (Speg.) era bastante patogénica a muitos insectos. ROVER em 1910 combateu com fungos o homóptero *Delphax saccharivora* Westw., insecto muito nocivo à cultura da cana do açúcar e para tal fim, espalhou os esporos prèviamente misturados com farinha.

Longa seria ainda a lista dos casos referentes ao mesmo assunto, mas que nos dispensamos de apontar, por não os considerarmos de importância primordial. Indicaremos, no entanto, alguns trabalhos de autores portugueses visando igualmente a propagação artificial de fungos parasitas de insectos.

Em 1895, o agrónomo ANTÓNIO GOMES RAMALHO pretendeu combater o burgo (*Tortrix viridana* L.), recorrendo ao emprego da *Beauveria (Isaria) densa* (Link.) Picard., *Isaria destructor* e *Beauveria (Sporotrichum) globulifera* (Speg.) Picard. Estes micetas foram importados de Paris, mas os trabalhos limitaram-se apenas a ensaios laboratoriais.

Outro distinto agrónomo, JOÃO DA CÂMARA PESTANA publicou três trabalhos: «Destruição dos gafanhotos por meio do *Empusa*

Acridii» (1901), «Destruction of *Lecanium hesperidum* by *Sporotrichum globuliferum*» (1908) e «Destruction of *Lecanium hesperidum* by *Sporotrichum globuliferum*» (1909).

Em 1936, Ribeiro Baptista apresentou como representante da Delegação portuguesa no «Fourth International Locust Conference» uma comunicação intitulada: «Contribution pour l'étude des ennemis du *Nomadacris septemfasciata*», na qual chama a atenção para a acção dos fungos *Empusa grylli* Sew. Fres., *Aspergillus nidulans* e *Sporotrichum* sp. considerando-os eficazes auxiliares na luta contra aquela praga.

Em 1941, Rosa d'Azevedo no seu trabalho «Estudo biológico da *Carpocapsa pomonella* em Portugal», faz referências a uma epizootia entre as larvas deste insecto que chegava a provocar uma mortalidade de 100 $^0/_0$.

Por último citamos o trabalho de Duarte Ferreira: «Um fungo parasita da *Cydia Pomonella* L.», donde extraímos as notas referentes aos trabalhos de autores portugueses.

Apesar de os casos apontados anteriormente terem incalculável valor e justificarem por si só, o grande interesse que a disseminação artificial de fungos entomógenos tem suscitado, no entanto muita controvérsia existe ainda, porque nem sempre as experiências são coroadas de êxito. Enquanto alguns investigadores relatam casos deveras entusiásticos, outros há que são mais comedidos e condicionam o êxito da aplicação de fungos na luta contra insectos nocivos, a um conjunto de factores naturais que consideram essenciais, tais como a humidade, temperatura, grau de luminosidade e nutrição do hospedeiro ou parasita. Quanto aos dois primeiros, admite-se, dum modo geral, que uma atmosfera quente e húmida favorece a actividade epidémica dum fungo. É o que acontece na Flórida onde o desenvolvimento de fungos parasitas de cochonilhas é estimulado por abundantes aguaceiros e uma atmosfera quente. Tais circunstâncias fazem com que a maior parte da população de cochonilhas permaneça numa baixa densidade, causando assim pequenos prejuízos nas árvores ou frutos. Na Califórnia, ao contrário, observa-se uma época húmida durante os meses mais frios e uma estação seca que por vezes chega a ser árida durante os meses mais quentes do Verão. Deste modo, é de esperar ali

pequeno benefício da disseminação artificial de fungos parasitas. Quanto à luminosidade, observa-se muito frequentemente que o ataque dos fungos é mais intenso na parte inferior das copas das árvores, onde é menor a penetração da luz.

Além disso, vários autores admitem que se sob a influência daqueles predominantes factores ambientais, a propagação do fungo é tal que o máximo número de esporos infecta o máximo número de insectos, nenhum resultado adicional se pode esperar da propagação artificial, a não ser que esses factores se alterem. Tal equilíbrio é conhecido pela designação de «saturation point». Sempre que na Natureza exista um condicionalismo ambiental que provoque uma disseminação ineficiente do fungo, ou o que é o mesmo, o «saturation point» não seja atingido, é de esperar que a disseminação artificial possa provocar um maior número de infecções. Porém, mesmo que o «saturation point» tenha sido alcançado por infecção natural, há ainda possibilidade de alterar as condições do meio ambiente de maneira a aumentar a infecção. Para isso, pode-se provocar, por exemplo, uma alteração na humidade existente, quer por meio de pulverizações aquosas sobre a superfície das folhas e frutos, quer ainda pelo emprego de culturas intercalares nos pomares. Este método tem sido empregado na Flórida a fim de aumentar a eficiência da *Empusa fresenii* sobre afídeos.

É também fora de dúvida que a susceptibilidade do insecto à infecção possa ser aumentada ou diminuída desde que a nutrição da planta hospedeira seja alterada. Por outro lado, alguns autores são de opinião que muitas vezes o êxito do emprego de fungos entomógenos não depende inteiramente de serem favorecidos pela temperatura e humidade, mas também da circunstância de os insectos adoecerem ou enfraquecerem em consequência de fortes chuvadas que costumam cair em épocas determinadas nas regiões intertropicais, ou dos períodos extremamente húmidos que se verificam ocasionalmente durante certos meses do ano, na maioria dos países extratropicais.

Fawcett (1948) comentando a controvérsia também existente acerca da influência que a aplicação de fungicidas terá na densidade populacional das cochonilhas, diz que alguns autores pretendem demonstrar a importância dos fungos parasitas, pelo aumento daqueles insectos após a aplicação da calda bordaleza em

citrinos. A rápida multiplicação dos insectos seria então atribuída à destruição dos fungos. Outros, porém, atribuem tal aumento mais à presença de cal e de outros materiais inertes não considerados fungicidas, contidos nas caldas.

Steinhaus (1949), ao analisar a importância dos fungos entomógenos, afirma que apesar da controvérsia existente, ninguém pode negar que na Natureza e sem qualquer auxílio da parte do Homem, os fungos provocam uma mortalidade tremenda e regular em muitas pragas de insectos em diversas partes do mundo, sendo por conseguinte enorme a sua importância económica. Speare (1922) foi ao ponto de afirmar que «os fungos entomógenos valem milhões de dólares para a indústria citrina. Devido ao seu excelente trabalho, as laranjas e as uvas podem ser cultivadas com lucro em muitas regiões da Flórida, sem que seja necessário gastar um centavo em produtos químicos».

Quanto à utilização artificial desses fungos, Steinhaus considera que o êxito dependerá do conhecimento existente acerca dos numerosos factores postos em jogo, tais como «saturation point», influências climatéricas, duração do período óptimo de propagação, conveniente proporção de esporos a aplicar, bem como de outros factores intrínsecos relativos às populações de insectos. Assim, sabemos que existem sempre dois valores óptimos, um de temperatura e outro de humidade que, ao verificarem-se simultâneamente, permitem que um fungo se desenvolva o melhor possível. Logo, a actividade deste será tanto maior, quanto maior for a duração dessas condições óptimas de temperatura e humidade. Embora haja algumas excepções, no entanto, numerosos estudos indicam que temperaturas entre 20° e 30° C. cobrem o óptimo da maior parte dos fungos parasitas de insectos. Por outro lado, a humidade tem um papel importante na germinação e infecção provocada pelos mesmos. Em geral, quanto mais elevada é a humidade relativa, maior desenvolvimento ocorre.

Admite-se como regra geral que, sendo grande a densidade populacional dum insecto susceptível, quando a temperatura média diária oscila dentro do intervalo acima mencionado e a humidade relativa é elevada e da ordem dos 90 $^0/_0$ ou mais, e ainda, quando o agente causador se encontra presente em proporções adequadas, se torna muito provável o aparecimento de uma epizootia.

CAPÍTULO II

Revisão Bibliográfica

Nomenclatura.

Embora o fungo em estudo pareça ter sido observado pela primeira vez por NIETNER (1861), em Ceilão, foi no entanto ZIMMERMAN (1898), que encontrando-o sobre o *Lecanium viride* [*Coccus viridis* (Green)] infestando plantações de café em Java, o descreveu resumidamente sob o nome de *Cephalosporium lecanii.*

DOP (1905), em França, registou sob o nome de *Hyalopus Yvonis*, uma espécie dum fungo parasitando *Aspidiotus perniciosus* Comst. sobre folhas de coqueiro provenientes de Martinica.

Estava o artigo de DOP ainda no prelo quando GUEGUÉN (1904), em Paris, publicou uma comunicação na qual descrevia, sob o nome de *Acrostalagmus coccidicola,* um fungo que tinha encontrado parasitando um coccídio sobre as folhas dum arbusto [*Mikania* (?)].

PETCH (1925), ao discutir este assunto, admite que DOP em certos pontos da sua descrição se baseou em observações erradas, pelo que considera o *Hyalopus Yvonis* morfològicamente idêntico ao *Cephalosporium lecanii* Zimm.

Por outro lado, diz que a descrição de GUEGUÉN acerca do *Acrostalagmus coccidicola,* identifica-o morfològicamente com o *Cephalosporium lecanii* Zimm. embora biològicamente tal não se verifique quanto a alguns caracteres de crescimento.

Estabeleceu-se também controvérsia sobre se qualquer destas duas espécies deveria ser referida aos géneros *Hyalopus*, *Cephalosporium* ou *Acrostalagmus.*

PARKIN (1906) notou que o *C. lecanii* possuía cabeças conidiais mucilaginosas e atendendo a este facto, preferia atribuí-lo ao género *Hyalopus,* cujas cabeças são constituídas por um grande glóbulo de mucilagem, no qual os conídios se encontram livres uns dos outros. Contudo, no *C. lecanii* não tinha sido observado tal excesso de mucilagem.

Lindau (1904), que havia estudado o *Hyalopus populi*, declarou que em cultura e em atmosfera húmida, este fungo produzia cabeças em que os conídios estavam juntos e rodeados por mucilagem, mas em atmosfera seca os conidióforos produziam sòmente conídios dispostos livremente dentro duma cabeça mucilaginosa. Por esta razão, considerava que o fungo não diferia, no mais leve grau, do *Cephalosporium* e por isso era de opinião de que o género *Hyalopus* era apenas um *Cephalosporium* desenvolvido sob condições húmidas.

Há, deste modo, acordo geral em englobar o género *Hyalopus* no *Cephalosporium*. Ambos parecem ter sido criados ao mesmo tempo, tendo no entanto o género *Hyalopus* a prioridade, mas o termo *Cephalosporium* foi geralmente preferido e consagrado.

Quanto aos géneros *Acrostalagmus* e *Cephalosporium*, aquele difere deste em possuir conidióforos ramificados em vez de simples.

Petch admite que a separação dos dois géneros pareceria ser talvez conveniente no que respeita à maioria das espécies de *Cephalosporium* que possuem conidióforos simples, embora haja, sem dúvida, espécies deste género que possuem não só conidióforos simples como também ramificados.

Por outro lado, verifica-se que as espécies parasitas de insectos apresentam esta última característica e não haveria portanto qualquer vantagem em classificá-las no género *Acrostalagmus* onde raramente seriam procuradas, pois muito embora o termo *Acrostalagmus* seja anterior ao *Cephalosporium*, foi este o preferido e por consequência, mais usado.

Petch (1925), propõe então que se adopte a seguinte nomenclatura:

Cephalosporium (Acrostalagmus) lecanii Zimm.

e

Cephalosporium (Acrostalagmus) coccidicolum Guéguen

quando se admitirem espécies biológicas. Caso contrário, deve-se adoptar ùnicamente a primeira designação.

Resolvemos neste trabalho mencionar sempre o fungo em estudo pela designação que é vulgarmente mais conhecida: *Cephalosporium lecanii* Zimm.

Insectos hospedeiros do *Cephalosporium lecanii* Zimm.

É impressionante notar que, graças à sua grande actividade, nada menos que vinte espécies nocivas de insectos, distribuídas por doze géneros, são indicadas através da bibliografia consultada, como fortemente parasitadas. Por esta razão, já se poderá de certo modo avaliar da importância deste fungo na luta biológica.

Apresentamos em seguida uma relação onde figuram essas espécies, todas pertencentes à Ordem Hemiptera e à Sub-Ordem Homoptera, das quais dezoito à Família *Coccidae.*

Família Coccidae

Ceroplastes floridensis Comst.
» *sinensis* Del Guercio
Coccus acuminatus (Sign.)
» *hesperidum* L.
» *mangiferae* (Green)
» *viridis* (Green)
Eucalymnatus spp.
Eulecanium coryli (?)
» *nigrofasciata* (Perg.)
» *persicae* (Fab.)
Mesolecanium deltae (Lizier)
Paralecanium expansum (Green)
Pulvinaria flavescens Brèthes
Protopulvinaria pyriformis (Ckll.)
Saissetia hemisphaerica (Targ.)
» *nigra* (Nietn.)
» *oleae* (Bern.)
Toumeyella liriodendri Gmel.

Família Margarodidae

Icerya Purchasi Mask.

Família Aleyrodidae

Aleyrodes sp.

Distribuição geográfica do *Cephalosporium lecanii* Zimm.

Esta espécie está largamente difundida pelas mais variadas regiões do Mundo, pelo que a podemos considerar cosmopolita. A sua existência foi assinalada em todos os Continentes com maior ou menor intensidade, mas sempre apontada como um factor de grande importância na luta biológica contra algumas cochonilhas.

Relatamos a seguir a distribuição geográfica do fungo através dos vários Continentes.

África

Seabra (1917), assinala pela primeira vez na Ilha de S. Tomé, o *C. lecanii* e aponta-o como um eficaz parasita do *Coccus viridis* (Green), infestando plantações de café.

Em S. Tiago de Cabo Verde foi encontrado pelo Eng.º Agrónomo CANCELA DA FONSECA, em Março de 1953, um fungo parasitando igualmente com grande intensidade o *C. viridis* sobre plantas de café (*Coffea* spp.), goiabeira (*Psidium Guajaba* L.) e mogno (*Khaya senegalensis* A. Juss.) e que por nós foi identificado como sendo o *Cephalosporium lecanii*.

ÁSIA

Segundo relata PETCH (1925), este fungo parece ter sido observado pela primeira vez por NIETNER em Ceilão, no ano de 1861, parasitando o *Lecanium coffeae* sobre cafeeiros. É ainda o mesmo autor que verifica também em Ceilão o *C. lecanii* parasitando as espécies *Lecanium viride* [*Coccus viridis* (Green)], *L. nigrum* [*Saissetia nigra* (Nietn.)], *L. coffeae* [*Saissetia hemisphaerica* (Targ.)], *L. expansum* [*Paralecanium expansum* (Green.)], *Ceroplastes* sp. e um *Aleyrodes* negro.

FAWCETT (1948) relata que o citado fungo entomógeno foi também ali encontrado por PARKIN em 1906 parasitando o *C. viridis* sobre café e *Citrus*.

Ao Sul da Índia e ainda em plantações de café, PETCH (1925), assinala-o parasitando o *Lecanium viride* [*Coccus viridis* (Green)].

OCEANIA

Na Ilha de Java foi encontrado por ZIMMERMAN em 1898 parasitando de igual modo o *Lecanium viride* (*C. viridis*) sobre café e descrito sob o nome de *Cephalosporium lecanii*.

Novamente PETCH assinala-o em Nova Gales do Sul (Austrália) sobre *Lecanium oleae* [*Saissetia oleae* (Bern.)] em *Phormium tenax* e na Nova Zelândia, atacando uma cochonilha que não especifica, sobre *Citrus*.

AMÉRICA

América do Norte — WATSON e BERGER (1937) assinalaram o *C. lecanii* na Flórida e consideraram-no um importante parasita da *Protopulvinaria pyriformis* (Ckll.).

Novamente FAWCETT (1948) regista a ocorrência do fungo ainda na Flórida sobre *Citrus*, parasitando *Coccus hesperidum* L., *Saissetia hemisphaerica* (Targ.), além do *C. viridis* (Green) e da *Icerya Purchasi* (Mask.).

CÁNOVAS (1934) assinala-o também naquele Estado parasitando as seguintes cochonilhas: *Ceroplastes floridensis* Comst., *Coccus acuminatus* (Sign.), *Coccus mangifirae* (Green), *Lecanium nigrofasciatum* [*Eulecanium nigrofasciata* (Perg.)], e *Toumeyella liriodendri* (Gmel.), ocorrendo em manga *(Mangifera* spp.), magnolia *(Magnolia* spp.), palmeira e pinheiro (*Pinus* spp.).

América Central — Em Porto Rico, FAWCETT, na obra citada, apresenta como parasitados pelo fungo, embora não indicando as plantas infestadas, os seguintes coccinelídios: *Ceroplastes floridensis* Comst., *Coccus hesperidum* L., *Saissetia oleae* (Bern.), *Saissetia hemisphaerica* (Targ.) e *Saissetia nigra* (Nietn.).

América do Sul — É ainda o mesmo autor que na Guiana Inglesa e no Brasil cita o fungo como um eficiente parasita do *Coccus viridis* (Green) infestando plantações de café.

Na Argentina, MARCHIONATTO (1934) aponta o *C. lecanii* como um importante parasita que ataca principalmente as cochonilhas da sub-famílla *Lecaninae* e assinala-o sobre: *Lecanium persicae* [*Eulecanium persicae* (Fab.)], *Mesolecanium deltae* (Lizier) e *Saissetia oleae* (Bern.) (sobre oliveira), na província de Buenos Aires e Ilhas de Delta e Paraná.

Recentemente MARCHIONATTO (1945) regista-o sobre a *Pulvinaria flavescens* Brèthes em *Citrus* e *Icerya Purchasi* (Mask.).

EUROPA

Checoslováquia — BLATNY (1938) relata que sobre uma extensa área da Boémia Central, durante o Outono de 1937 mais de 90 $^0/_0$ de larvas do *Lecanium coryli-corni (Eulecanium coryli* L. ?), infestando ameixeiras, foram mortas pelos *Cephalosporium lecanii* e *Cordyceps pistilariaeformis*, sendo o primeiro, o principal responsável pela mortalidade indicada.

Rússia — POSPELOFF (1936), cita o *C. lecanii* como estando largamente difundido ao longo do Mar Negro e aponta-o como frequen-

temente obtido de espécies de *Ceroplastes, Coccus, Eucalymnatus, Lecanium, Pulvinaria* e *Saissetia,* sobre *Citrus.*

Portugal — Em relação ao território Continental, não encontrámos quaisquer referências bibliográficas acerca do parasitismo do *C. lecanii* nas cochonilhas. Não obstante, Cancela da Fonseca (1951) assinalou pela primeira vez o *Acrostalagmus albus* Preuss., parasitando o *Coccus hesperidum* L. e a *Saissetia oleae* (Bern.). Conforme procuraremos esclarecer no Cap. VI, este fungo identifica-se, quanto a nós, com a espécie em estudo e que foi isolada de material proveniente de diversas regiões do País.

À medida que obtínhamos material, quer por nossa iniciativa, quer ainda principalmente pela preciosa colaboração, que nos é grato registar, dos Ex.mos Srs. Professor Raúl de Garcia Cabral e Carlos Baeta Neves e Eng.º Agrónomo Cancela da Fonseca, foi-nos possível notar a existência do *C. lecanii* em cinco Províncias da Metrópole e em S. Tiago de Cabo Verde.

Além do *Coccus hesperidum* e da *Saissetia oleae* já mencionados, há ainda a acrescentar o *Ceroplastes sinensis, Saissetia hemisphaerica* (Targ.) e *Eulecanium persicae* (Fab.) que ficam agora pela primeira vez registados entre nós, como também parasitados.

Passamos a descrever, em resumo, a distribuição geográfica no País do *C. lecanii* de acordo com o material colhido ou recebido das diferentes regiões:

Estremadura — Cancela da Fonseca (1951), assinalou na Tapada da Ajuda ataques intensos do fungo em colónias de *C. hesperidum* vivendo sobre: tangerineira (*Citrus nobilis* Lour.); laranjeira (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck); limoeiro (*Citrus limonia* Osbeck); limeira doce (*Citrus limonia* Osbeck var. *Limetta* (Risso) Engler); limeira azeda (*Citrus aurantifolia* (Cristm.) Swingle); loureiro (*Laurus nobilis* L.); hera (*Hedera canariensis* Willd. Webb. et Bert.); e menos intensamente em: marmeleiro (*Cydonia oblonga* Miller) e *Hibiscus Rosa — sinensis* L. No concelho de Cadaval encontrou-o novamente em laranjeira e sevadilha (*Nerium Oleander* L.).

Sobre *S. oleae* o fungo é também por ele assinalado na Tapada da Ajuda sobre azevinho *(Ilex Aquifolium* L.) e sevadilha, e por Pau-Preto (1952) sobre oliveiras (*Olea europea* L.). medronheiro *Arbutus Unedo* L.) e olaia (*Cercis Siliquastrum* L.). Este último

autor cita-o também em material constituído por ramos de azevinho e sevadilha, colhidos pelo Prof. Baeta Neves em Monserrate. Em Sintra, foi também encontrado na *Saissetia hemisphaerica* (Targ.) sobre murta (*Myrtus communis* L.).

Tivémos a oportunidade de observar na execução do presente trabalho, o parasitismo das cochonilhas citadas na Tapada da Ajuda, bem como no *Eulecanium persicae* (Fab.) sobre ameixeira (*Prunus domestica* L.).

Em Dezembro de 1952, um fungo foi também encontrado pelo Prof. Raúl Cabral em Setúbal, parasitando *C. sinensis*, *C. hesperidum* e *S. oleae* sobre *Citrus* e por nós foi identificado como sendo o *C. lecanii*.

Registámo-lo também em Oeste — Paião e Vimeiro de Alcobaça sobre *S. oleae* em material proveniente daquelas localidades e constituído por ramos de laranjeira.

Em Pedrógão, o Prof. Baeta Neves encontrou-o parasitando *S. oleae* sobre ramos de samouqueiro (*Myrica Faya* Ait.).

Baixo Alentejo — Assinalámo-no na importante zona citrícola de Vidigueira parasitando *C. hesperidum* e *S. oleae* sobre *Citrus*.

Ribatejo — Comprovámos a sua existência em material colhido pelo Prof. Baeta Neves em Pègões sobre *S. oleae*. Em Vale das Mós, registámo-lo parasitando esta última espécie e o *C. hesperidum*. Tanto numa região como na outra, o material infestado era constituído por ramos de laranjeira.

Douro Litoral — Identificámo-lo sobre *S. oleae* infestando ramos de azevinho provenientes do concelho de Vila do Conde.

Trás-os-Montes — Registámo-lo vivendo sobre *S. oleae* em laranjeiras jovens provenientes de Santo-Aleixo.

Açores — Sobre ramos de laranjeira infestados de *C. hesperidum* e *S. oleae* enviados deste Arquipélago, verificámos estarem estas duas cochonilhas parasitadas por um fungo que nos parece tratar-se duma variedade do *C. lecanii* (Vide Cap. VI).

Damos a seguir no Quadro I a distribuição geográfica mundial do *C. lecanii*, com a indicação dos insectos parasitados e das plantas sobre as quais eles foram encontrados.

QUADRO I

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA MUNDIAL do *Cephalosporium lecanii* Zimm.

Continentes	Países ou Arquipélagos	Províncias ou importantes regiões	Insectos Parasitados	Plantas Infestadas
ÁFRICA		Ilha S. Tomé	*Coccus viridis* (Green)	Café (*Coffea* spp.)
	Cabo Verde		*Coccus viridis* (Green) » » » »	Café (*Coffea* spp.) Goiabeira (*Psidium Guajaba* L.) Mogno (*Khaya senegalensis* A. Juss.)
ÁSIA	Ceilão		*Aleyrodes* sp. *Ceroplastes* sp. *Coccus viridis* (Green) *Paralecanium expansum* (Green) *Saissetia hemisphaerica* (Targ.) *Saissetia nigra* (Nietn.)	Café (*Coffea* spp.) » » » » » » » » » »
	Índia	Região Sul	*Coccus viridis* (Green)	Café (*Coffea* spp.)
OCEÂNIA	Índ. Neerland.	Ilha de Java	*Coccus viridis*	Café (*Coffea* spp.)
	Austrália	N. Gales do S.	*Saissetia oleae* (Bern.)	*Phormium tenax* Forst.
	Nova Zelând.			*Citrus* spp.
AMÉRICA DO NORTE	Estados Unidos	Flórida	*Ceroplastes floridensis* Comst. *Coccus acuminatus* (Sign.) *Coccus hesperidum* L. *Coccus mangiferae* (Green) *Coccus viridis* (Green) *Paralecanium nigrofasciata* (Perg.) *Protopulvinaria pyriformis* (Ckll.) *Saissetia hemisphaerica* (Targ.) *Toumeyella liriodendri* Gmel. *Icerya Purchasi* Mask.	 *Citrus* spp. *Citrus* spp. *Citrus* spp. *Citrus* ssp.

Continentes	Países ou Arquipélagos	Províncias ou importantes regiões		Insectos Parasitados	Plantas Infestadas
AMÉRICA CENTRAL	Porto Rico			*Ceroplastes floridensis* Comst. *Coccus hesperidum* L. *Saissetia hemisphaerica* (Targ.) *Saissetia nigra* (Nietn.) *Saissetia oleae* (Bern.)	
	Antilhas Inglesas			*Coccus viridis* (Green) *Icerya Purchasi* Mask.	
AMÉRICA DO SUL	Brasil	S. Paulo		*Coccus viridis* (Green)	Café (*Coffea* ssp.)
	Guiana Inglesa			*Coccus viridis* (Green)	Café (*Coffea* spp.)
	Argentina	Província de Buenos Aires e Ilhas de Delta e Paraná		*Eulecanium persicae* (Fab.) *Mesolecanium deltae* (Lizier) *Pulvinaria flavescens* Brèthes *Saissetia oleae* (Bern.) *Icerya Purchasi* Mask.	 *Citrus* spp. Oliveira (*Oleae europeae* L.)
EUROPA	Checoslováquia	Boémia Central		*Eulecanium coryli* L. ?	Ameixeira (*Prunus domestica* L.)
	Rússia	Costa do Mar Negro		*Ceroplastes* spp. *Coccus* spp. *Eucalymnatus* spp. *Eulecanium* spp. *Pulvinaria* spp. *Saissetia* spp.	*Citrus* spp. » » » » » » » » » »
	Portugal	Estremadura	Setúbal	*Ceroplastes sinensis* Del Guercio *C. sinensis* *Coccus hesperidum* L. » » *Saissetia oleae* (Bern.) » »	Laranjeira (*C sinensis*) Tangerineira (*C. nobilis*) » Laranjeira » Tangerineira
			Tapada da Ajuda	*Eulecanium persicae* (Fab.)	Ameixeira (*Prunus domestica* L.)
			Oeste-Paião	*Saissetia oleae* (Bern.)	Laranjeira

Continentes	Países ou Arquipélagos	Províncias ou importantes regiões		Insectos Parasitados	Plantas Infestadas
EUROPA	Portugal	Estremadura	Vimeiro de Alcobaça	*Saissetia oleae* (Bern.)	Laranjeira
			Pedrógão	*Saissetia oleae* (Bern.)	Samouqueiro (*Myrica Faya* Ait.)
			Sintra	*Saissetia hemisphaerica* (Targ.)	Murta (*Myrtus communis* L.)
		Baixo Alentejo	Vidigueira	*Coccus hesperidum* L. » » *Saissetia oleae* (Bern.) » »	Laranjeira Limoeiro (*C. limonia*) » Laranjeira
		Ribatejo	Pègões	*Saissetia oleae* (Bern.)	Laranjeira
			Vale das Mós	*Coccus hesperidum* L. *Saissetia oleae* (Bern.) » »	Laranjeira » Tangerineira
		Douro Litor.	C. de Vila do Conde	*Saissetia oleae* (Bern.)	Azevinho (*Ilex Aquifolium*)
		T.-os-Montes	Santo-Aleixo	*Saissetia oleae* (Bern.)	Laranjeira
	Açores			*Coccus hesperidum* L. *Saissetia oleae* (Bern.)	Laranjeira »

Plantas hospedeiras de insectos parasitados

Apoiados na distribuição geográfica que acabámos de referir, apurámos 25 plantas pelas quais se distribuem as espécies de insectos já mencionados.

Há que salientar ainda a circunstância de, a este número de plantas infestadas, pertenceram dez ao nosso País e duas a S. Tiago de Cabo Verde, e que por essa razão foram assinaladas pela primeira vez.

Apresentamos em seguida a lista da totalidade das plantas infestadas de insectos parasitados pelo *C. lecanii*:

Arbutus Unedo L.
Cercis Siliquastrum L.
Citrus aurantifolia (Cristm.) Swingle
Citrus limonia Osbeck
Citrus limonia Osbeck var. *Limetta* (Risso) Engler
Citrus nobilis Lour.
Citrus sinensis (L.) Osbeck
Coffea spp.
Cydonia oblonga Miller
Hedera canariensis Willd. Webb. et Bert.
Hibiscus Rosa-sinensis L.
Ilex Aquifolium L.
Khaya senegalensis A. Juss.
Laurus nobilis L.
Magnolia spp.
Mangifera spp.
Myrica Faya Ait.
Myrtus communis L.
Nerium Oleander L.
Olea europea L.
Phormium tenax Forst.
Pinus spp.
Prunus domestica L.
Psidium Guajaba L.
Palmeira [1]

No Quadro II registamos as plantas que foram assinaladas pela primeira vez como portadoras de cochonilhas parasitadas pelo referido fungo.

QUADRO II

Insectos Parasitados	Plantas Infestadas assinaladas pela primeira vez	Distribuição Geográfica
Coccus hesperidum L.	*Laurus nobilis* L. *Cydonia oblonga* Miller *Hibiscus Rosa-sinensis* L. *Hedera canariensis* Willd. Webb. et Bert.	Portugal
Saissetia oleae (Bern.)	*Myrica Faya* (Ait.) *Cercis Siliquastrum* L. *Ilex Aquifolium* L. *Arbutus Unedo* L. *Nerium Oleander* L.	
Saissetia hemisphaerica (Targ.)	*Myrtus communis* L.	
Coccus viridis (Green)	*Khaya senegalensis* A. Juss. *Psidium Guajaba* L.	Cabo Verde

[1] Desconhecemos a que espécie CÁNOVAS (1934) se refere.

Importância do *Cephalosporium lecanii* Zimm. na luta biológica

Analisemos o interesse desta espécie baseando-nos não só em referências atrás citadas, como também pelo testemunho de vários autores.

A circunstância de havermos notado o parasitismo do fungo sobre 20 espécies de insectos considerados, como acabámos de ver, altamente prejudiciais a diversas plantas, entre elas algumas de maior valor económico (citrinos, oliveira, café, etc.), serviria desde já, para dar uma ideia da importância deste parasita, cuja actividade se estende através de todos os Continentes. Porém, tais factos não bastariam para consagrar definitivamente a espécie em estudo se ela não se tivesse revelado como um agente altamente eficaz na luta biológica natural e aplicada contra esses insectos. Com efeito, ao descrevermos a distribuição geográfica do fungo, tivémos a oportunidade de apontar algumas referências de vários autores e nenhum houve que negasse a sua elevada eficiência, desde os extensos pomares de citrinos da Flórida, América do Sul e Rússia, aos olivais da Argentina passando pelas ricas plantações de café em Ceilão, Índia, Java, Brasil e S. Tomé. A propósito desta Província Ultramarina e porque queremos vincar mais uma vez a importância económica que para o País tem o referido fungo, não resistimos à tentação de transcrever o que Seabra (1917?) sobre o mesmo assunto relata: «Les plantations de Caféiers ont été de même fortement endommagées par une cochenille, le *Coccus viridis* (Green). Un cryptogame encore, le *Cephalosporium lecanii* Zimm. s'en empara de telle sorte qu'il est très rare de recevoir aujourd'hui des exemplaires du *C. viridis* qui ne soit pas parasités».

CAPÍTULO III

Material e Métodos

a) Material.

Quando iniciámos o nosso trabalho, encontrámos já existente no Laboratório de Patologia Vegetal Veríssimo d'Almeida, um fungo que havia sido isolado pelo Prof. Raúl Cabral das cochonilhas

S. oleae sobre azevinho (*Ilex Aquifolium* L.) e *C. hesperidum* infestando limoeiro (*Citrus limonia* Osbeck.), na Tapada da Ajuda. Este material havia sido colhido em Novembro de 1949 e mencionado pela primeira vez por Cancela da Fonseca (1951), tendo sido identificado como sendo *Acrostalagmus albus* Preuss.

Em 9 de Dezembro de 1952 foi-nos entregue pelo mesmo Professor, material por ele colhido em Setúbal a 5 do mesmo mês, o qual era constituído por ramos de laranjeira e tangerineira que se encontravam infestadas por *Ceroplastes sinensis* Del Guer., *Coccus hesperidum* L., *Saissetia oleae* (Bern.) e *Lepidosaphes Beckii* (New.). À excepção desta última espécie, todas as outras se encontravam fortemente parasitadas pelo referido fungo.

Também pela mesma data, recebemos material (ramos de laranjeira) por intermédio da Repartição dos Serviços Fitopatológicos, proveniente dos Açores cujas cochonilhas (*C. hesperidum* e *S. oleae*) se apresentavam parasitadas (Quadro I). Este material havia sido colhido em 25 de Novembro de 1952.

A partir do *C. sinensis* sobre laranjeira de Setúbal e do *C. hesperidum* em laranjeira dos Açores, isolámos em 13 de Dezembro de 1952, os fungos responsáveis pela mortalidade verificada nesses insectos. Ao longo do nosso trabalho, fomos isolando também os fungos que parasitavam as diversas cochonilhas assinaladas no Cap. II, nas seguintes regiões: Vidigueira, Santo-Aleixo (Trás-os-Montes), Pègões, Vale das Mós (Ribatejo), S. Tiago de Cabo Verde, Concelho de Vila do Conde, Vimeiro d'Alcobaça, Oeste-Paião e Sintra.

Meios de cultura para manutenção da colecção

Para os nossos isolamentos foram empregados os meios gelosados de Dox e batata simples, embora tivéssemos utilizado mais o primeiro. Com o decorrer do trabalho, certificámo-nos de que a gelose de Dox nos trazia mais vantagens não só por se tratar dum meio de cultura que está constantemente a ser utilizado no laboratório, mas também por proporcionar maior esporulação ao fungo; daí a razão porque optámos definitivamente por este meio para a manutenção das colecções. As culturas eram renovadas com intervalos de mês e meio.

Culturas a utilizar em futuras inoculações

Havíamos obtido ao todo 14 isolamentos de fungos parasitas de cochonilhas, se incluirmos as duas culturas já existentes no Laboratório de Patologia Vegetal V. d'Almeida. Tratar-se-ia de espécies idênticas?

A pouco e pouco fomos obtendo elementos que nos permitiam afirmar que todos os fungos eram idênticos, exceptuando aquele que foi obtido do material açoreano, por diferir nalguns aspectos, pelo que o considerámos possìvelmente como uma variedade (Vide Cap. VI).

O estudo foi feito paralelamente utilizando a gelose de Dox em placas de Petri e em tubos de ensaio com gelose inclinada. Em seguida efectuámos um estudo comparativo que incidiu sobre:

a) Crescimento da colónia;
b) Desenvolvimento micelial;
c) Coloração da cultura à superfície e vista através da base da placa;
d) Análise microscópica dos caracteres morfológicos.

Esta última alínea requeria, como é óbvio, maior atenção da nossa parte pelo que se tornou conveniente cultivarmos os fungos em anel de Van Tieghem, utilizando igualmente a gelose de Dox e submetendo-os à mesma temperatura. O estudo incidiu depois sobre as dimensões dos conídios, conidióforos e cabeças conidiais, fazendo para cada caso 20 medições.

Estes trabalhos permitiram-nos estabelecer, por conveniência prática, a existência de três colecções.

Colecção I — Constituída pela cultura isolada do *C. sinensis* sobre laranjeira de Setúbal e pelas obtidas de materiais provenientes das regiões seguintes: Vidigueira, Santo-Aleixo (Trás-os-Montes), Pègões, Vale das Mós (Ribatejo), S. Tiago de Cabo Verde, Concelho de Vila do Conde, Vimeiro de Alcobaça, Oeste-Paião e Sintra. Todas estas culturas eram idênticas em crescimento, desenvolvimento micelial, coloração branco-amarelada do micélio e caracteres microscópicos.

Colecção II — Constituída pelo fungo (culturas existentes na micoteca do Laboratório de Pat. Vegetal) isolado do *C. hesperidum* sobre limoeiro e *S. oleae* em azevinho, da Tapada da Ajuda. Este miceta apresentava, em relação aos fungos das colecções I e III, as seguintes diferenças culturais:

a) À excepção do fungo proveniente dos Açores, apresentava crescimento um pouco mais rápido em relação aos da colecção I.

b) Desenvolvimento micelial aéreo muito denso.

c) A coloração branca do micélio era duma grande pureza, em comparação principalmente com as culturas da colecção I.

d) Apresentava menor número de esporos não só pela simples observação microscópica directa das cabeças conidiais (em anéis de Van Tieghem), como também pelo exame de uma suspensão de esporos, obtida pela adição de 5 c. c. de água em cada tubo de cultura.

Colecção III — Cultura obtida do *C. hesperidum* parasitado em laranjeira proveniente dos Açores. Este fungo apresentava, em relação aos da colecção I e II, crescimento bastante rápido e um desenvolvimento micelial aéreo muito abundante, além de que os seus esporos possuíam maiores dimensões (Vide Cap. VI).

b) **Métodos.**

1. *Obtenção de culturas puras.* — Seguimos neste trabalho o método de isolamento por esporo único.

2. *Identificação dos instares das cochonilhas parasitadas no País.* — Conseguimos este objectivo baseando-nos em estudos morfológicos das três cochonilhas já mencionadas (*C. sinensis, C. hesperidum* e *S. oleae*) e nos métodos de fixação e coloração usuais descritos para estas espécies nos trabalhos de Vilar (1950), Cancela da Fonseca (1951) e Pau-Preto (1952).

3. *Métodos de coloração usados nos cortes histológicos efectuados em cochonilhas.* — Pretendíamos observar o micélio do fungo no interior dos insectos parasitados pelo que, atendendo à extrema delicadeza da operação a efectuar, optámos pelo corte histológico, executado ao micrótomo, dos insectos prèviamente incluídos em parafina. Para isso, começámos por fixar durante 24 horas em formol a 5 $^0/_0$, algumas cochonilhas que se encontravam parasi-

tadas. Para evitar que o excesso de fixador prejudicasse depois a coloração a efectuar, lavaram-se seguidamente em água destilada durante duas horas.

Como os tecidos para serem cortados têm que sofrer prèviamente uma desidratação seguida de endurecimento, a primeira operação foi obtida introduzindo os insectos em álcool a 95° durante vinte e quatro horas e seguidamente em álcool absoluto durante 30 minutos na estufa a 50° C., onde ainda eram mantidos durante mais hora e meia mergulhados desta vez em xilol. As cochonilhas foram depois enxugadas levemente em papel de filtro e em seguida procedia-se à operação de endurecimento dos tecidos, introduzindo-as em parafina mole (ponto de fusão 46°-48° C.) derretida em cápsulas de porcelana que eram depois conservadas durante 24 horas na estufa a 50° C. Passado este tempo, fizémos a inclusão do material em blocos de parafina dura (56-58°).

Procedemos depois ao corte no micrótomo, regulando a espessura para 7-9 μ. Os cortes obtidos eram estendidos em água tépida e recolhidos em lâminas de vidro prèviamente tratadas com uma mistura de albumina e glicerina.

Para que a aderência dos cortes fôsse perfeita, as lâminas eram depois colocadas a secar na estufa a 40° C.

Seguia-se a operação de coloração [1] para o que se tornava necessário atender, para cada corte obtido, as fases que resumidamente apontamos:

I — Desparafinação em xilol.
II — Hidratação, passando sucessivamente por álcool a 90°, 70° e água destilada.
III — Aplicação de alúmen férrico-amoniacal a 3 % como mordente, durante 3 minutos.
IV — Lavagem em água destilada.
V — Aplicação de hematoxilina férrica durante 7-8 minutos.
VI — Desidratação, passando sucessivamente por água destilada, álcool a 95°, novamente em álcool a 95°, álcool absoluto e xilol.
VII — Montagem em Bálsamo do Canadá.

---

[1] As técnicas seguintes encontram-se descritas, embora com ligeiras modificações, por Celestino da Costa e Roberto Chaves (1943).

Este método de coloração obtido por aplicação da hematoxilina férrica, deu resultados satisfatórios, pois distinguia-se nìtidamente o micélio do fungo em todas as preparações observadas, apesar de tanto o tecido animal como o micélio ficarem igualmente corados de azul.

Com o fim de obtermos preparações em que mediante o emprego duma combinação de corantes, fôsse possível observar com maior realce a presença do fungo, ensaiámos um processo diferenciador que nos satisfez bastante depois de conseguirmos estabelecer por tentativas, os períodos óptimos de coloração. Empregámos neste método, a hematoxilina de Bohëmer e a eosina ácida, utilizando como diferenciador álcool clorídrico a 1 $^0/_0$. Indicamos a seguir as fases que o caracterizam:

I — Desparafinação em xilol.
II — Hidratação passando por álcool a 90°, a 70° e água destilada.
III — Coloração com hematoxilina de Bohëmer durante 12 minutos.
IV — Lavagem em água destilada.
V — Diferenciação com álcool clorídrico a 1 $^0/_0$ (passagem rápida deste pela lâmina).
VI — Lavagem em água destilada.
VII — Introdução em água quente até azular ($\pm$ 5 minutos).
VIII — Lavagem em água destilada.
IX — Coloração com eosina ácida a 1 $^0/_{00}$, durante 5 minutos.
X — Coloração com eosina ácida a 1 $^0/_0$, durante 10 minutos.
XI — Lavagem em água destilada.
XII — Desidratação, passando sucessivamente por álcool a 95°, de novo a 95° e absoluto.
XIII — Passagem por xilol a fim de esclarecer a preparação.
XIV — Montagem em Bálsamo do Canadá.

Mediante esta técnica, os tecidos dos insectos ficam corados de vermelho, enquanto que o micélio do fungo se apresenta com uma coloração azul-violácea.

CAPÍTULO IV

Estudo do parasita

A) *No insecto.*

1. *Sintomalogia da doença.* — Alguns autores admitem que embora haja infecção no insecto, nem sempre se evidencia a presença do fungo parasita, pois o seu desenvolvimento pode ser interrompido por condições secas, de tal modo que os corpos dos insectos são dissecados ou tornam-se incapazes de suportar o posterior desenvolvimento do fungo. Caso não se faça um cuidadoso exame microscópico, aquilo que muitas vezes é apontado como uma mortalidade natural ou inexplicável, pode resultar afinal da actividade de fungos parasitas que vivem internamente e raras vezes se apresentam no exterior.

O estudo sintomatológico foi em grande parte apoiado no desenvolvimento da doença após as inoculações experimentais por nós realizadas com o *Cephalosporium lecanii* Zimm., e apenas indicaremos a sintomatologia dos insectos parasitados para os casos que considerámos evidentes. Não quer isto dizer que o nosso estudo fôsse só fruto de observações macroscópicas; sempre que nos aparecia um aspecto suspeito, recorríamos ao exame microscópico do insecto em causa. Deste modo, foi-nos possível considerar como parasitados muitos insectos que exteriormente não apresentavam qualquer sinal de ataque, mas que mediante uma observação microscópica da sua face ventral, revelavam muitas vezes a presença de micélio embora em pequeníssima quantidade. Foi este o critério que adoptámos quando no Cap. V fizémos a determinação da mortalidade obtida após as inoculações experimentais.

Pudemos constatar a existência da doença em todas as épocas do ano, mas pareceu-nos que ela prevalecia no período que vai desde o fim do Inverno até ao começo do Verão, por encontrar nesse tempo condições favoráveis de humidade e temperatura.

Com o objectivo de apresentar um estudo da sintomatologia o mais completo que nos fôsse possível, decidimos descrevê-la para cada espécie parasitada, apontando os aspectos que caracterizavam os respectivos instares.

Ceroplastes sinensis Del Guer. — Nesta espécie, a sintomatologia é idêntica para todos os instares à excepção do insecto adulto que não nos foi dado observar parasitado.

A infecção traduz-se pelo aparecimento de um fino bordo micelial branco-amarelado constituído por delicadas hifas irradiando a partir do contorno do corpo do insecto e sobre a superfície da planta até uma distância de cerca de 1 mm [1] (Fig. 1). Mais tarde notámos uma descoloração na face dorsal do insecto, que de vermelho escuro passa a rosa pálido.

Coccus hesperidum L. — *1.º instar* — Os indivíduos quando infectados começam por apresentar uma coloração mais intensa, acastanhada, que se mantém até final. Pouco a pouco vão surgindo as hifas do fungo em redor do corpo até que finalmente o cobrem com uma delgada película micelial branco-amarelada.

2.º instar — Nestes indivíduos, também os primeiros sintomas se traduzem pelo aparecimento duma gradual descoloração até se atingir uma tonalidade amarelo-palha ao mesmo tempo que o corpo do insecto se vai enrugando. Os primeiros sinais aparecem alguns dias mais tarde, manifestando-se do mesmo modo pelo aparecimento das hifas irradiando por baixo do corpo do insecto, de molde a formarem uma franja branco-amarelada em redor do mesmo, e sobre a superfície da planta infestada. Numa fase mais adiantada, o micélio acaba por cobrir completamente o corpo do insecto (Fig. 2).

Indivíduo adulto — Os insectos infectados começam por apresentar manchas irregulares castanho-escuras na face dorsal, ao mesmo tempo que se nota uma descoloração periférica que vai progredindo centrìpetamente; entretanto as manchas indicadas tornam-se mais escuras. Pouco a pouco, a zona periférica acaba por abranger completamente a face dorsal do insecto cujo corpo já nesta altura se apresenta endurecido e enrugado. Por volta do décimo dia aparecem igualmente os primeiros sinais — as hifas irradiando em volta do corpo do insecto — e mais tarde o aspecto

---

[1] Em regra, tanto nesta espécie, como nas seguintes, quando aparecem os primeiros sinais, já os insectos estão mortos.

final característico já atrás mencionado: o corpo do insecto envolvido e completamente coberto por abundante micélio.

Saissetia oleae (Bern.) — *1.º instar* — O mesmo que para o *Coccus hesperidum* L.

2.º e *3.º instares* — Há apenas que referir, em relação ao segundo instar da espécie anterior, que além da perda de cor observada, nota-se igualmente o aparecimento duma estrutura granular à superfície da face dorsal do insecto antes do aparecimento dos primeiros sinais.

Indivíduo adulto — Neste instar, os primeiros sintomas são caracterizados pela perda de cor do insecto que de castanho-escura passa a amarelo-suja. Conforme foi por nós verificado, este aspecto coincide com o ataque do fungo aos ovos da cochonilha que acabam por ser destruídos completamente (Fig. 3). Numa fase mais adiantada, verifica-se o aparecimento dos primeiros sinais que são, tal como nas espécies já mencionadas, caracterizadas pelo aparecimento das hifas irradiando por baixo e ao longo do contorno do corpo do insecto, constituindo como que uma franja branco-amarelada aureolando o insecto sem que no entanto o consiga cobrir.

Coccus viridis (Green) — Observámos esta cochonilha parasitada nos seus vários instares pelo *Cephalosporium lecanii*, mas apenas sobre material proveniente de Cabo Verde.

1.º e *2.º instares* — Os indivíduos apresentam-se completamente cobertos por uma delgada película micelial de cor branco-amarelada.

Indivíduo adulto — Apresenta a característica franja micelial branco-amarelada em volta do corpo e este encontra-se completamente coberto por micélio com idêntica coloração.

Coccus hesperidum L. e **Saissetia oleae** (Bern.) parasitados pela estirpe açoreana do *C. lecanii*.

A sintomatologia apresenta alguns aspectos característicos que se distinguem perfeitamente da provocada pela estirpe continental que temos estudado. Assim, os insectos parasitados não mostram a típica franja branco-amarelada que estávamos habi-

tuados a ver e encontram-se completamente cobertos pelo micélio cotonoso do fungo, que se estende uniformemente também por grandes zonas da planta infestada, sendo até necessário por vezes remover grandes massas de micélio para localizar as cochonilhas, tão densa é a camada micelial (Fig. 4). Além disso, a coloração desta é muito mais clara que a observada para o *C. lecanii*.

2. *Diagnose do fungo.* — Para o exame microscópico do *Cephalosporium lecanii* Zimm. sobre o hospedeiro, removemos das folhas infestadas algumas cochonilhas recentemente parasitadas (apenas com um ligeiro bordo de hifas em volta do corpo do insecto) e colocámo-las sobre lâminas de vidro em câmara húmida. Dum modo geral, as notas seguintes aplicam-se para todos os insectos observados.

Pouco a pouco, as hifas acabaram por circundar o insecto por meio duma franja micelial que inicialmente apresentava uma coloração branca. Sobre aquelas, formam-se depois conidióforos hialinos, geralmente simples e curtos, medindo 9-20 μ de comprimento e 1,1-1,7 μ de diâmetro, a distâncias variáveis uns dos outros e vulgarmente solitários, mas também aos pares e até três juntos. Os conidióforos produzem depois abundantes cabeças conidiais globosas com 6-25 μ de diâmetro e que mais tarde caem sobre a base dos conidióforos de modo a formarem uma camada de conídios hialinos, oblongo-ovais, com 3,5-4 $\times$ 1,4 μ dando finalmente à franja uma coloração branco-amarelada com aspecto ceroso. Cada cabeça conidial tem vulgarmente 6 a 8 conídios e às vezes até mais. Estes estão rodeados por uma substância mucilaginosa que em atmosfera seca não deixa distinguir os conídios uns dos outros, mas que em água se dissolve permitindo que aqueles se desprendam.

Numa fase mais adiantada, as hifas fortemente entrelaçadas que surgem à superfície da face dorsal do insecto, acabam por cobri-lo completamente, formando uma delgada mas consistente película micelial. Esta é ao princípio tomentosa e de cor branca enquanto os conidióforos não produzem cabeças conidiais porque, desde que tal se verifique, torna-se lisa e apresenta finalmente uma coloração branco-amarelada, de aspecto ceroso, devida à junção dos numerosos conídios que se desprendem das cabeças conidiais.

3. *Modo de actuação do fungo e causa da morte dos insectos parasitados.* — Nas inoculações experimentais que realizámos, facilmente constatámos que a morte das cochonilhas foi, sem dúvida, provocada pela acção do fungo, pois quando considerámos os ensaios terminados, os insectos testemunhas encontravam-se vivos e sem qualquer sintoma que denotasse doença infecciosa. Portanto, qualquer hipótese admitindo a existência de saprofitismo pelo fungo, estava implicitamente posta de parte. Restava-nos portanto conhecer o modo de actuação do fungo e a causa da morte dos insectos atacados.

Vários autores admitem que os fungos entomógenos podem actuar das seguintes maneiras:

1) Excretando substâncias tóxicas que provocam a destruição dos tecidos subjacentes ao integumento sobre o qual vivem.

2) Perfurando o integumento e destruindo os tecidos que lhe ficam interiores.

3) Obturando a traqueia pela emissão de micélio para dentro do corpo, provocando deste modo a morte por asfixia.

Dos três processos apontados, alguns autores apresentam como mais vulgar o segundo; para o nosso caso considerámo-lo também o mais plausível. Para provarmos esta hipótese, bastar-nos-ia observar a existência de micélio nos tecidos internos dos insectos. Com esse objectivo, decidimos efectuar preparações histológicas coradas de cochonilhas parasitadas.

Utilizámos neste estudo o *Coccus hesperidum* L. e a *Saissetia oleae* (Bern.), executando cortes tangenciais e longitudinais para mais concretamente ajuizarmos da penetração do fungo em extensão e profundidade.

Utilizámos primeiramente a hematoxilina férrica, mas apesar de os resultados obtidos serem satisfatórios, tanto o tecido animal como o micélio do fungo apareciam igualmente corados, impedindo deste modo o contraste. Contudo, não tínhamos quaisquer dúvidas em verificar a presença do micélio no interior dos tecidos.

Procurámos depois ensaiar novo método que nos permitisse diferenciar o tecido animal do micélio do parasita. Aplicámos então a hematoxilina de Bohëmer e a eosina ácida, usando como

diferenciador o álcool clorídrico a 1 %. Com este método, o objectivo foi atingido.

Em face das preparações obtidas, e de que apresentamos uma microfotografia (Fig. 5), foi então possível deduzir, quanto a nós, o modo de actuação do fungo e a causa da morte dos insectos parasitados.

O ataque do fungo deve iniciar-se ao longo do contorno do corpo, junto ao integumento da face ventral, não sendo fácil realizar-se através da face dorsal, pois não só os esporos encontram ali melhores condições de germinação, atendendo a que nessa zona é mais abundante a melada excretada pelos insectos, como também é aí, à superfície da planta, que o revestimento ceroso das cochonilhas sofre quebra de continuidade.

Esta nossa hipótese julgamo-la apoiada pelo facto de os primeiros sinais aparecerem ao longo do contorno do corpo, o que parece explicar o avanço da infecção em relação às outras regiões do mesmo.

Uma vez em contacto com a epicutícula (ep) do integumento (Fig. 6), as hifas germinativas penetram através da exocutícula (ex) e endocutícula (end.), atingindo finalmente os tecidos internos, após terem invadido a hipoderme (h) e a membrana basal (m. b.).

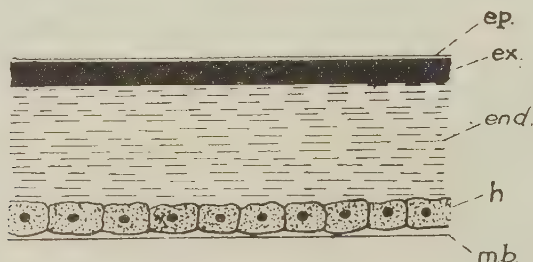


Fig. 6 — Esquema geral do integumento dum insecto. Imms (1942)

O micélio depressa ocupa o interior do corpo, frutificando aí e destruindo os órgãos internos, abre novamente caminho através do integumento ventral ou dorsal (dando-se neste último caso a perfuração no sentido inverso ao indicado), para depois surgir o micélio à superfície do insecto, acabando por revesti-lo. Assim se

pode explicar o aspecto sintomatológico de todos os instares do *Coccus hesperidum* e dos primeiros da *S. oleae* quando estas cochonilhas se encontram parasitadas.

Para os instares parasitados do *Ceroplastes sinensis* e para *S. oleae* adulta, nas mesmas circunstâncias, o micélio não chega a atingir a face dorsal desses insectos. Julgamos que tais factos só podem ser explicados pela resistência oferecida pela espessa camada cerosa à penetração do fungo.

B) *EM MEIOS ARTIFICIAIS DE CULTURA.*

1. CARACTERES CULTURAIS DO FUNGO EM DIVERSOS MEIOS GELOSADOS:

a) **Determinação do meio mais favorável para o crescimento.** — Fizemos este estudo, cultivando simultâneamente o fungo nos seguintes meios gelosados de cultura: Dox, malte, batata simples, batata glucosada a 2 $^0/_0$, feijão e cenoura.

Utilizando culturas puras mantidas em gelose de Dox e obtidas do *C. sinensis* (Colecção I), inoculámos para cada meio de cultura, 4 placas de Petri.

O inóculo era constituído por minúsculos discos ou cilindros, com cerca de 2 mm de diâmetro, retirados de culturas puras em placas com gelose de Dox, por meio de uma agulha terminada por um anel cortante. Conseguíamos, deste modo, estabelecer uma unidade de inóculo que, atendendo ao objectivo deste estudo, tornaria mais rigorosas as conclusões que pretendíamos. O inóculo era colocado no centro de cada placa, sendo depois as 24 placas colocadas na estufa a $21^\circ \pm 0{,}5^\circ$ C.

O ensaio docorreu durante 15 dias, e em intervalos de 24 horas registávamos os crescimentos das colónias, obtidos pela média aritmética de duas leituras diametrais ortogonais em cada placa [1].

De posse desses elementos, elaborámos um gráfico representativo dos crescimentos do fungo em cada meio, figurando em abcissas o número de dias considerados (15) e em ordenadas os valores do crescimento atingidos durante o mesmo período de tempo (Gráfico I).

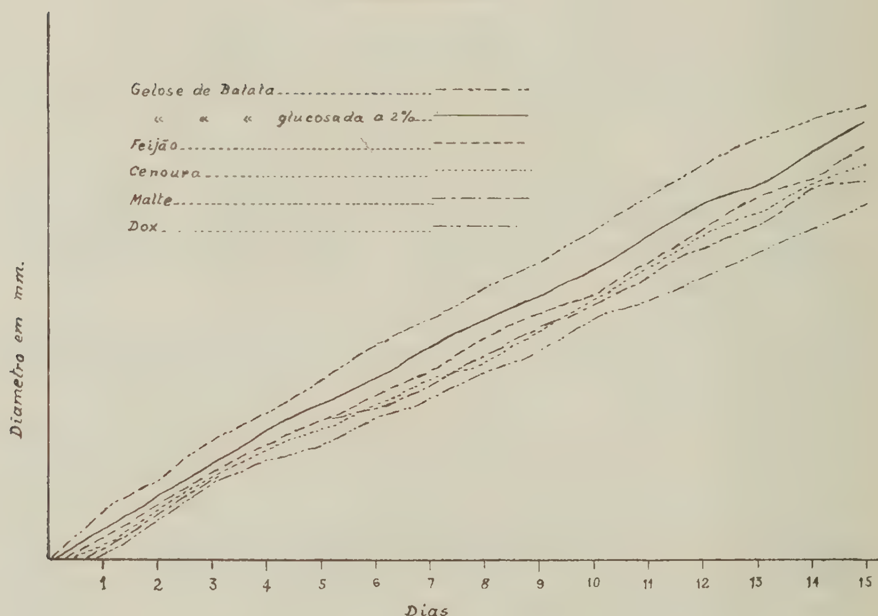
---

1 Os diâmetros eram prèviamente assinalados nas placas a tinta-da-china.

Gráfico representativo do crescimento do fungo

em 6 diferentes meios de cultura a 20,6-21° C.

GRÁFICO 1



Gelose de Dox. — Foi neste meio que o fungo evidenciou menor crescimento, atingindo 21 mm de diâmetro ao fim de 15 dias.

O micélio é superficial e apresenta-se de início brando e regularmente denso. Mais tarde, ostenta uma coloração levemente amarelada ao mesmo tempo que se torna pouco denso. Na face inversa da placa ainda mais se acentua a coloração apontada, que tende mesmo para uma tonalidade esverdeada.

Gelose de malte. — Também neste meio o fungo cresceu pouco, embora ligeiramente mais do que em Dox. Observámos que o crescimento da colónia paralizou pràticamente na fase final do ensaio. O micélio é completamente branco com desenvolvimento aéreo

mais abundante que no meio anterior. Na face inversa da placa, a colónia apresenta uma coloração amarela que julgamos própria do meio empregado.

Gelose de batata simples. — Foi neste meio que o fungo revelou maior crescimento, tendo a colónia atingido um diâmetro médio de 28 mm ao fim de 15 dias. O micélio é levemente amarelado, denso e superficial. Na face inversa da placa, apresenta uma coloração amarela, mais intensa que a já apontada.

Gelose de batata glucosada a 2 %. — Ocupa este meio o segundo lugar no que respeita ao mais favorável crescimento do fungo que atingiu o diâmetro médio de 26,5 mm em 15 dias. Foi nele onde o desenvolvimento vegetativo melhor se manifestou, provando assim em relação ao meio de cultura anterior, a flagrante influência da glucose. O micélio é denso, floconoso e apresenta uma coloração muito branca (ainda mais acentuada que a observada em malte), com desenvolvimento aéreo bastante abundante. Na face inversa da placa, a colónia apresenta uma coloração branca, mas levemente amarelada.

Gelose de feijão. — É o terceiro meio preferido pelo fungo no que respeita a crescimento, tendo a colónia atingido o diâmetro médio de 25 mm ao cabo de 15 dias. O micélio apresenta uma coloração branca, com desenvolvimento aéreo abundante numa zona central da colónia, tornando-se na periferia gradualmente superficial e pouco denso. Na face inversa da placa, a colónia mostra uma coloração amarela levemente acentuada.

Gelose de cenoura. — Quanto ao crescimento do fungo, este meio segue em importância o meio de cultura anterior. O micélio apresenta coloração branca, com desenvolvimento aéreo não muito abundante. Na face inversa da placa, a colónia ostenta uma coloração levemente amarelada.

b) **Determinação do meio mais favorável para a esporulação.** — Após ensaiarmos vários processos com o fim de estabelecer a influência dos diferentes meios gelosados sobre a esporulação do fungo sem que os resultados nos satisfizessem, resolvemos optar pelo seu cultivo nos meios já apontados, mas em anel de Van Tieghem e mantidos à temperatura de 23°,5 C. e 26° C.

Procurando inocular cada gota pendente com um pequeno

número de esporos (e sensivelmente com a mesma quantidade), apenas tocávamos muito levemente a extremidade duma agulha no micélio aéreo da colónia e a seguir sobre a gelose em gota pendente.

O método apontado forneceu-nos, como é evidente, apenas deduções estabelecidas por comparação, mediante observações microscópicas incidindo sobre a densidade das cabeças conidiais. Tornou-se, assim, possível considerar como altamente favoráveis à esporulação, os meios de Dox e malte e numa escala decrescente as seguintes geloses: de cenoura, feijão, batata simples e batata glucosada a 2 %.

Dum modo geral, podemos afirmar que a esporulação é satisfatória em qualquer dos meios gelosados empregados, muito embora se verifique maior densidade de cabeças conidiais sobre as geloses de malte e Dox e, em menor escala, na de batata glucosada a 2 %.

Das duas temperaturas ensaiadas, apenas a de 23°,5 C. se revelou vantajosa, porquanto a de 26° provou nitidamente que contraria em alto grau a esporulação. Assim, verificou-se que a esta temperatura, o fungo cultivado em gelose de batata e batata glucosada a 2 % não chegou a esporular ao fim de 25 dias, enquanto que nos restantes meios de cultura, era muito reduzido o número de cabeças conidiais, ao cabo do mesmo período de tempo. Para a temperatura de 23°,5 C., pelo contrário, foi possível observar ao fim duma semana o aspecto verticilado dos conidióforos e estabelecer, no que respeita à esporulação, a comparação entre os meios gelosados empregados.

2. INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NO CRESCIMENTO:

Quando descrevemos os caracteres culturais do fungo nos diversos meios, procurámos vincar como era notório o desenvolvimento vegetativo do mesmo sobre a gelose de batata glucosada a 2 % em relação a qualquer outro meio de cultura e, em especial, à gelose de batata, seu mais próximo competidor no que respeita ao crescimento.

As Figs. 7 a 12 mostram os aspectos macroscópicos do fungo cultivado nos seis meios nutritivos mencionados.

Optámos, portanto, pela gelose de batata glucosada, ao pretendermos avaliar da influência da temperatura no crescimento do

fungo. Preparámos para cada temperatura cinco placas de Petri contendo esse meio, que foram inoculadas segundo o sistema adoptado anteriormente. As placas foram submetidas às seguintes temperaturas (com oscilação de $\pm$ 0,5° C.): 21° C., 23° C., 24° C., 26° C. e à temperatura ambiente (cerca de 12°,5 C.).

Os crescimentos das colónias foram obtidos pela média aritmética de 2 leituras diametrais ortogonais, que permitiram elaborar o Gráfico II representativo do crescimento do fungo, tomando para abcissas o número de dias considerado (15) e, para ordenadas, os valores dos crescimentos atingidos durante o mesmo período de tempo. No Gráfico IIa, apresentamos a variação do crescimento, com as temperaturas ensaiadas, ao fim do período considerado.

Consultando os Gráficos II e IIa verifica-se que a temperatura óptima de crescimento está próxima de 23° C. No Gráfico II observa-se ainda que nos primeiros quatro dias, o crescimento do fungo é sensivelmente o mesmo para as de 21°, 23° e 24° C., e que muito embora a temperatura do ambiente tivesse provocado inicialmente um crescimento lento comparada com a de 26°, a sua influência torna-se com o decorrer do tempo, muito mais favorável que esta última.

Culturas submetidas a 36°,5 C., durante 24 horas, e depois transferidas para o meio ambiente durante 23 dias, não evidenciaram qualquer crescimento. Essa temperatura, actuando durante o período de tempo apontado, foi letal para o fungo. Mantido a 37°,5 C. durante 9 horas e depois à temperatura ambiente, verificámos que aquela não lhe foi letal, pois evidenciou crescimento após 3 dias da sua transferência.

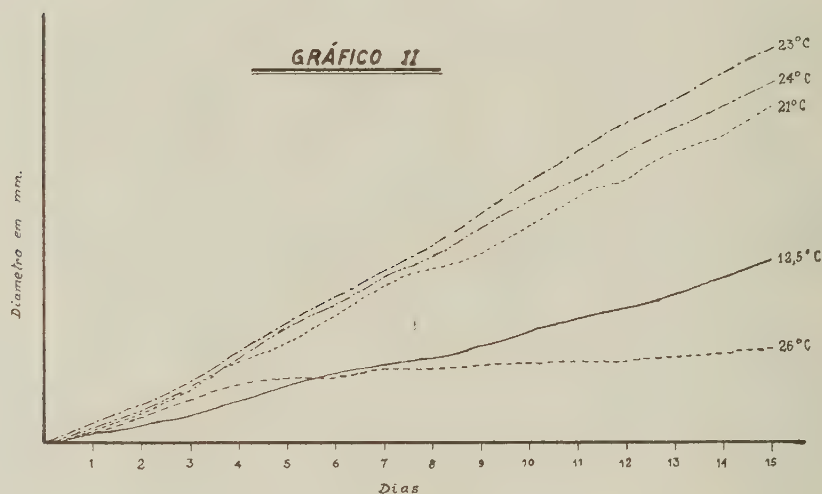
3. INFLUÊNCIA DA HUMIDADE NA GERMINAÇÃO DOS ESPOROS:

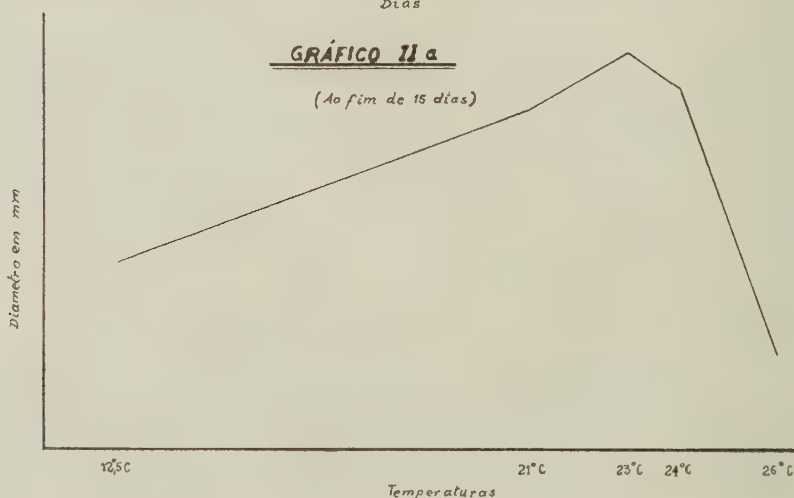
Como sabíamos de antemão que os esporos da maioria dos fungos entomógenos exigem grandes humidades relativas para iniciarem a sua germinação, ensaiámos apenas as seguintes condições:

1. Germinação numa gota de água
2. » em ambiente a 100 % H. R. (sobre vidro seco)
3. » » » » 98,5 % H. R. (» » »)
4. » » » » 96,1 % H. R. (» » »).

Gráficos representativos do crescimento do fungo em batata glucosada

E a varias temperaturas.





Para o primeiro caso, o ensaio foi realizado em anel de Van Tieghem, utilizando uma gota duma suspensão de esporos retirados duma cultura pura com 23 dias de idade em gelose de batata glucosada a 2 %. Para se evitar a perda de água por evaporação, o bordo superior do anel foi completamente untado de vaselina.

Para a obtenção das H. R. dos casos 2, 3 e 4, empregámos soluções de ácido sulfúrico em frascos de boca larga e rolha esmerilada com capacidade de 200 c. c. Cada frasco recebia 100 c. c. da necessária solução. A fim de se aumentar a aderência das rolhas e melhor garantir o isolamento com o meio exterior, a parte esmerilada foi untada com vaselina. Num suporte de arame fixo à rolha, colocámos uma lamela desinfectada e seca disposta horizontalmente; na sua face inferior depositámos esporos provenientes da cultura já citada. Foi este o sistema que resultou eficaz, pois havíamos primeiramente ensaiado colocando os esporos sobre a face superior da lamela, sem qualquer êxito.

A experiência realizou-se à temperatura de 24° C., e os resultados referem-se a percentagens de esporos germinados em cada frasco e obtidas em certo número de observações feitas com intervalos determinados de horas (Quadro III). Fez-se a contagem, ao acaso, de 50 esporos sobre cada lamela.

Para o caso 1 (gota pendente) aplicámos o mesmo critério de contagem.

QUADRO III

PERCENTAGEM DE ESPOROS GERMINADOS

HORÁRIO DE LEITURAS (horas)	GRAUS DE HUMIDADE			
	96,1 %	98,5 %	100 %	Gota d'água
5				
19		8 %	58 %	70 %
24		14	64	90
29				100
43		52	76	
48	10 %	60	80	
67	20	74	86	
72	25	80	96	
91	30	88	100	

Démos o ensaio por terminado ao fim de 91 horas, tempo este que coincidiu com a germinação de 100 % de esporos, verificada no frasco a 100 % de humidade relativa.

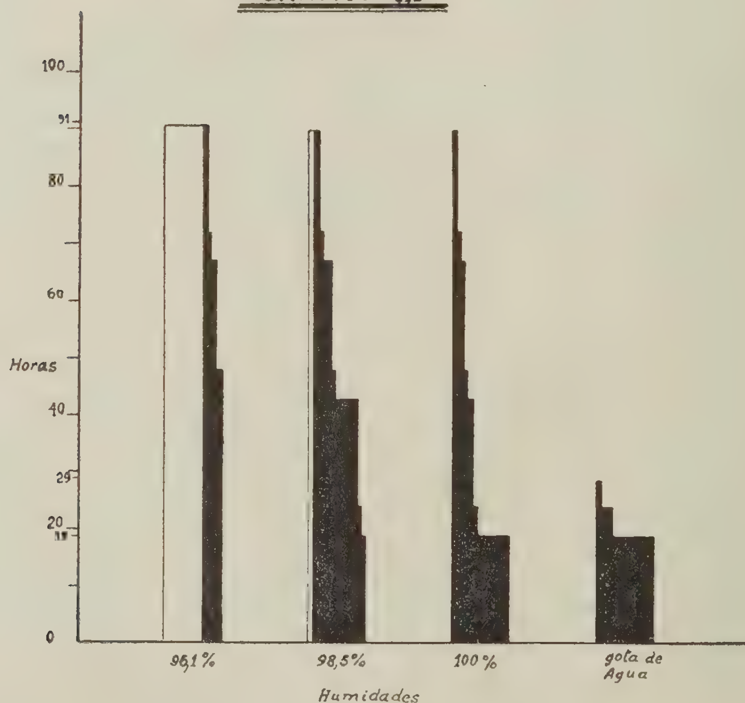
Para maior rigor, o ensaio foi repetido mais duas vezes nas mesmas condições, com resultados sensivelmente idênticos.

Apresentamos no Quadro III as percentagens de germinação verificadas para os diferentes graus de humidade ensaiadas, bem como o número de horas ao fim das quais os registos foram obtidos.

Gráfico representativo da influencia da humidade

na germinação dos esporos

GRÁFICO III



% de esporos germinados (a negro) nas diferentes condições de ensaio e em relação às horas de contagem.

Conforme se pode observar melhor pela consulta do Gráfico III, elaborado de acordo com os elementos do Quadro anterior, é nítida a maior rapidez de germinação dos esporos em água. Enquanto nesta condição, a germinação total foi observada ao fim de 29 horas, igual resultado só foi atingido para 100 $^0/_0$ H. R. ao cabo de 91 horas. Para este tempo, em contrapartida, apenas obtivémos 88 $^0/_0$ de esporos germinados a 98,5 $^0/_0$ H. R. e escassos 30 $^0/_0$ para 96,1 $^0/_0$ H. R.

4. ASPECTOS MICROSCÓPICOS DO FUNGO EM ANEL DE VAN TIEGHEM:

O fungo foi cultivado em agar de Dox e mantido na estufa à temperatura de 23°,5 C. O seu crescimento mais uma vez se revelou bastante lento e sòmente ao fim de quatro dias o micélio se tornou visível à vista desarmada, enquanto que ao microscópio se notava o aparecimento de conidióforos. Estes são na sua grande maioria simples, hialinos, aguçados na extremidade e medindo 10-25 μ de comprimento e 1-1,4 μ de diâmetro. Observa-se um grande número de conidióforos solitários e aos pares (Fig. 13), sendo menos frequente o aparecimento de três no mesmo verticilo.

Os conídios começam a aparecer ao fim duma semana e é vulgar observar-se 1, 2 e 3 conídios na extremidade de cada conidióforo. À medida que os conídios se vão formando, ficam rodeados completamente por uma substância mucilaginosa, dando ao conjunto o aspecto duma cabeça globosa, sem qualquer película externa hialina visível. Os conídios dispõem-se irregularmente na cabeça e é variável o seu número. Essas cabeças conidiais medem normalmente 6,3-7 μ, podendo no entanto atingir valores mais elevados quando duas ou mais se reúnem. A substância mucilaginosa que as rodeia é solúvel na água, desprendendo-se então os conídios das respectivas cabeças (Fig. 14). Os conídios são hialinos, oblongo-ovais e medem geralmente 2,5-4 $\times$ 1-1,7 μ.

CAPÍTULO V

Inoculações experimentais

Estas inoculações visaram não só conhecer e demonstrar o parasitismo do *Cephalosporium lecanii* Zimm. sobre algumas cochonilhas, como também permitir fazer uma ideia aproximada do valor

prático do fungo, quando aplicado na luta biológica contra alguns desses insectos.

Conforme referimos no Cap. III, decidimos efectuar as inoculações empregando uma cultura representativa de cada colecção (I, II, III). Estes fungos foram obtidos, como dissemos, por isolamento respectivamente das seguintes cochonilhas parasitadas: *Ceroplastes sinensis* em laranjeira de Setúbal, *Saissetia oleae* sobre azevinho da Tapada da Ajuda e *Coccus hesperidum* em laranjeira dos Açores.

Em todas as experiências utilizámos, como método de inoculação, a pulverização de suspensões de esporos sobre os insectos infestantes, empregando um pequeno pulverizador de vidro. O inóculo era proveniente de culturas com um mês de idade em gelose de Dox, por este meio favorecer altamente a esporulação do fungo.

Era condição indispensável estarmos garantidos quanto à perfeita sanidade dos insectos a pulverizar. Por este motivo e embora com dificuldade, conseguimos infestar com *C. sinensis, C. hesperidum, S. oleae, Chrysomphalus dictyospermi* Morg., *Lepidosaphes Beckii* New. e *Pseudococcus citri* Risso, laranjeiras, tangerineiras e limoeiros jovens. Estas plantas estavam envasadas e colocadas numa estufa de campo e a infestação obteve-se mediante a distribuição sobre elas, de folhas e pequenos troços de ramos portadores daquelas cochonilhas sãs. Quando da inoculação (17-7-1953) deixámos, em cada planta, alguns ramos infestados servindo de testemunhas, para o que se tornou necessário envolvê-los com sacos de celofane estrangulados sobre uma porção de algodão hidrófilo. Não conseguimos nesta primeira tentativa qualquer resultado positivo, devido a que, neste período, a temperatura na estufa era excessiva não só para as infestações que porfiávamos obter artificialmente como para as infecções que pretendíamos com o fungo.

Resolvemos então realizar novo ensaio, utilizando plantas que estivessem naturalmente infestadas por cochonilhas e que não apresentassem sinais denotantes de qualquer parasitismo. Por outro lado, as plantas, como hospedeiras que eram de insectos, deveriam conservar o vigor vegetativo durante o tempo necessário à obtenção de resultados. Conseguimos reunir estas condições cortando ramos portadores de cochonilhas absolutamente sãs e conservando-os logo em copos com água. Todo o material foi colhido

na Tapada da Ajuda e inoculado no mesmo dia. Os ramos colhidos de *Nerium Oleander* L. estavam infestados de *C. hesperidum*, *S. oleae* e *Aspidiotus hederae* Vallot, e os de *Raphiolepis Delacourii* André atacados de *C. sinensis*.

Como tínhamos interesse em ensaiar insectos acerca dos quais não existiam quaisquer referências quanto à sua susceptibilidade ao *Cephalosporium lecanii*, decidimos, atendendo à sua importância económica, experimentar também as cochonilhas *Ch. dictyospermi* e *L. Beckii* sobre ramos de tangerineira.

Organizámos três lotes iguais de material infestado pelas diferentes cochonilhas citadas, sendo cada lote destinado a ser inoculado com o fungo duma colecção.

As inoculações realizaram-se no dia 9 de Novembro de 1953, segundo o método já descrito, empregando culturas esporuladas em Dox. Uma vez inoculado o material, este foi colocado em estufins existentes na estufa do campo e nos quais prèviamente se criou um ambiente húmido mediante uma boa aspersão de água sobre as paredes e fundo dos mesmos. Além disso, durante os quatro primeiros dias que se seguiram às inoculações, efectuámos diàriamente uma fina pulverização aquosa sobre material inoculado, a fim de garantir melhores condições de germinação dos esporos e de infecção. Utilizámos, nas mesmas condições, material idêntico, servindo de testemunha, sendo os insectos pulverizados apenas com água. Démos por terminadas as experiências ao fim dum mês.

Julgávamos obter nesta primeira experiência, apenas o esboço duma técnica que tentaríamos afinar ao efectuarmos novas inoculações. Daí a razão porque não nos interessou grandemente registar os valores da humidade e temperatura no decorrer do ensaio.

As nossas melhores espectativas foram porém excedidas quanto aos resultados obtidos. Fez-se o apuramento dos mesmos, mediante contagem indistinta, feita à lupa de trezentos indivíduos (sempre que possível) de cada espécie. Após a identificação, seguia-se a repartição dos mesmos pelos instares correspondentes, exprimindo em percentagens, a mortalidade verificada nas espécies inoculadas. Deste modo, foi-nos possível determinar não só a percentagem da mortalidade total para cada espécie, como também a referente a qualquer dos seus instares (Quadros IV, V e VI).

QUADRO IV

MATERIAL — COLECÇÃO I — Inoculação em 9-11-953

Ramos de *Nerium Oleander* L.								Ramos de *Raphiolepis Delacourii* André			
Coccus hesperidum L.				*Saissetia oleae* (Bern.)				*Ceroplastes sinensis* Guer.			
Instares	Indivíduos contados	Indivíduos parasitados	Mortalidade %	Instares	Indivíduos contados	Indivíduos parasitados	Mortalidade %	Instares	Indivíduos contados	Indivíduos parasitados	Mortalidade %
1.º	129	113	88	1.º	51	40	89,5	1.º	27	16	59
2.º	85	77	90,5	2.º	187	171	95,4	2.º	50	23	46
—	—	—	—	3.º	62	52	88	3.º	9	2	23
Adulto	86	83	96,5	Adulto	1	1	—	Adulto	3	0	0
Total. .	300	273	91	*Total* . .	300	264	88	*Total* . .	89	41	46,5

QUADRO V

MATERIAL — COLECÇÃO II — Inoculação em 9-11-953

1.º	75	43	57,3	1.º	—	—	—	Inoculações negativas
2.º	162	65	40	2.º	70	49	70	
—	—	—	—	3.º	104	34	33	
Adulto	63	26	41,2	Adulto	126	48	31	
Total. .	300	134	43	*Total* . .	300	131	41	

QUADRO VI

MATERIAL — COLECÇÃO III — Inoculação em 9-11-953

1.º	85	62	73	1.º	—	—	—	Inoculações negativas
2.º	165	60	36,3	2.º	48	23	48	
—	—	—	—	3.º	102	55	54	
Adulto	50	29	58	Adulto	150	54	36	
Total. .	300	151	50	*Total* . .	300	132	44	

Vejamos alguns resultados:

Com o fungo da Colecção I, a mortalidade total no *C. hesperidum* foi de 91 $^0/_0$, tendo atingido 96,5 $^0/_0$ nos indivíduos adultos; para a *S. oleae* a mortalidade total foi de 88 $^0/_0$, mas nos indivíduos do segundo instar a mortalidade atingiu 95,4 $^0/_0$; para o *C. sinensis*, o fungo mostrou-se menos virulento, pois a mortalidade total foi de 46,5 $^0/_0$, enquanto nos indivíduos do primeiro instar se verificou 59 $^0/_0$ de mortalidade.

Com o fungo da Colecção II, observou-se em relação ao anterior, nítida quebra de virulência, pois a mortalidade total foi de 43 $^0/_0$ para o *C. hesperidum* e de 41 $^0/_0$ para a *S. oleae* que nos indivíduos do segundo instar acusou no entanto uma mortalidade de 70 $^0/_0$; para o *C. sinensis*, as inoculações foram negativas.

Com o fungo da Colecção III, a mortalidade total foi de 50 $^0/_0$, para o *C. hesperidum* e de 44 $^0/_0$ para a *S. oleae*, enquanto que no *C. sinensis* as inoculações resultaram também negativas.

Por outro lado, constatámos que com as cochonilhas *A. hederae*, *Ch. dictyospermi* e *L. Beckii*, as inoculações foram negativas, utilizando qualquer das três colecções apontadas.

Os primeiros sintomas da doença e os primeiros sinais do aparecimento do fungo nos insectos atacados são os indicados no Quadro VII.

Em face do grande número de infecções que dia a dia surgiam na experiência anterior e antes que tivéssemos feito o seu apuramento, resolvemos para confirmação dos resultados que já antevíamos satisfatórios, repetir as inoculações. Estas tiveram lugar no dia 24 de Novembro, isto é, duas semanas após o início das anteriores. Seguimos em tudo a mesma técnica e utilizando material idêntico, apenas as culturas eram mais novas, com 13 dias de idade.

Propusémo-nos desta vez registar os valores da temperatura e humidade; para isso colocámos no mesmo estufim um termómetro de máxima e mínima e um higrógrafo, sendo os registos para a temperatura efectuados de 24 em 24 horas.

QUADRO VII

PERÍODO DE INCUBAÇÃO E MANIFESTAÇÃO DO APARECIMENTO DO FUNGO

Colecções	Insectos	Sintomas	Aparecimento do fungo
I e II (Estirpe continental)	*C. hesperidum*		
	1.º instar	5.º dia	10.º dia
	2.º »	»	»
	S. oleae		
	1.º instar	5.º dia	10.º dia
	2.º »	»	»
	3.º »	»	»
	Adulto	7.º dia	»
	C. sinensis		
	1.º instar	Depois do aparecimento do fungo.	15.º dia
	2.º »	Idem	»
	3.º »	Idem	»
	Adulto	—	»
III (Estirpe insular)	Exceptuando para o *C. sinensis*, que não foi atacado, os períodos de tempo para a manifestação dos sintomas e aparecimento do fungo foram sensìvelmente iguais aos anteriores.		

Ao cabo de quatro semanas considerámos a experiência terminada e para cada semana, os valores da temperatura e humidade foram dados pela média aritmética dos respectivos registos efectuados durante o mesmo período de tempo, conforme consta do seguinte quadro;

QUADRO VIII

	Temperaturas médias °C		Humidade relativa — Média %
	Mínima	Máxima	
1.ª semana	14	20	97,8
2.ª semana	14	18	97.7
3.ª semana	13	18	96,7
4.ª semana	13	17	91,7

O apuramento dos resultados fez-se segundo o critério já apontado e vêm expressos nos Quadros IX, X e XI.

Novamente tivémos a satisfação de assinalar interessantes resultados. Assim, com o fungo da Colecção I, a mortalidade total no *C. hesperidum* foi de 89 %, tendo atingido 94 % nos indivíduos adultos; para a *S. oleae*, registámos 85 % de mortalidade total enquanto que nos indivíduos do segundo instar a mortalidade atingiu 97 %; para o *C. sinensis* a mortalidade total entre os 55 exemplares de que dispúnhamos foi de 26 %.

Com o fungo da Colecção II, a mortalidade total foi de 39 % para o *C. hesperidum* e de 66 % para a *S. oleae* que acusou nos indivíduos do segundo instar, 73 % de mortalidade; para o *C. sinensis,* de novo as inoculações resultaram negativas.

Com o fungo da Colecção III, a mortalidade total foi de 59,3 % para o *C. hesperidum* e de 37 % para a *S. oleae* enquanto que no *C. sinensis* as inoculações foram também negativas.

Para as cochonilhas *A. hederae, Ch. dictyospermi* e *L. Beckii,* inoculadas com qualquer das três colecções apontadas, de novo constatámos a ausência de infecções.

Resolvemos efectuar uma nova experiência sob outras condições, a 27 do mesmo mês, isto é, três dias após o começo da última referida mas desta vez, apenas sobre o *C. hesperidum, S. oleae* e *C. sinensis,* infestando as duas primeiras cochonilhas, *Nerium Oleander* L. e a última *Raphiolepis Delacourii* André. Folhas destas plantas foram colocadas em caixas de vidro funcionando de câmaras húmidas, mediante a introdução de pequenas bolas de algodão

QUADRO IX

MATERIAL — COLECÇÃO I — Inoculação em 24-11-953

Ramos de *Nerium Oleander* L.								Ramos de *Raphiolepis Delacourii* André			
Coccus hesperidum L.				*Saissetia oleae* (Bern.)				*Ceroplastes sinensis* Guer.			
Instares	Indivíduos contados	Indivíduos parasitados	Mortalidade %	Instares	Indivíduos contados	Indivíduos parasitados	Mortalidade %	Instares	Indivíduos contados	Indivíduos parasitados	Mortalidade %
1.º	90	76	85	1.º	57	49	86	1.º	19	4	21
2.º	154	139	90,2	2.º	102	99	97	2.º	32	9	28
—	—	—	—	3.º	97	93	96	3.º	3	1	33
Adulto	56	53	94	Adulto	44	14	32	Adulto	1	0	0
Total . .	300	268	89	*Total* . .	300	255	85	*Total* . .	55	14	26

QUADRO X

MATERIAL — COLECÇÃO II — Inoculação em 24-11-953

1.º	52	23	44,2	1.º	—	—	—	Inoculações negativas
2.º	165	68	41,2	2.º	214	157	73	
—	—	—	—	3.º	59	37	62	
Adulto	83	27	34,4	Adulto	27	4	15	
Total . .	300	118	39	*Total* . .	300	198	66	

QUADRO XI

MATERIAL — COLECÇÃO III — Inoculação em 24-11-953

1.º	32	20	63	1.º	—	—	—	Inoculações negativas
2.º	68	31	46	2.º	127	43	34	
—	—	—	—	3.º	48	22	46	
Adulto	200	127	60	Adulto	25	8	32	
Total . .	300	178	59,3	*Total* . .	200	73	37	

embebidas em água. Adoptámos o mesmo método de inoculação servindo-nos de culturas com duas semanas de idade. Noutra caixa deixámos material idêntico e nas mesmas condições, servindo de testemunha.

As caixas foram depois mantidas numa estufa de incubação a 22° C. durante vinte dias após o que considerámos a experiência terminada.

É de salientar, a rapidez a que se chegou quanto ao apuramento dos resultados e a grande mortalidade atingida pela inoculação com o fungo da Colecção I (Quadro XII). Assim, registámos a mortalidade total de 97 $^0/_0$ no *C. hesperidum* e de 82 $^0/_0$ na *S. oleae*, acusando esta cochonilha nos três últimos instares, 100 $^0/_0$ de mortalidade; para o *C. sinensis*, a mortalidade total foi de 78 $^0/_0$ e atingiu 90 $^0/_0$ nos indivíduos do primeiro instar.

O fungo da Colecção II, em contrapartida, não provocou qualquer infecção nas três espécies referidas o que, quanto a nós, só pode ser atribuído a uma possível deficiência de humidade, uma vez que a mesma cultura se havia revelado virulenta três dias antes.

O fungo da Colecção III provocou uma mortalidade de 100 $^0/_0$ em todos os instares de *C. hesperidum* e da *S. oleae*, mas de novo se mostrou ineficaz ante o *C. sinensis*.

Métodos artificiais de disseminação de fungos entomógenos

Não faria sentido se, uma vez que conseguimos obter resultados prometedores com as inoculações experimentais, não pleiteássemos pela sua disseminação em maior escala, que mais não fôsse, para tentarmos utilizar com bastantes probabilidades de êxito, os conhecimentos adquiridos quanto ao parasita em estudo, mediante os ensaios laboratoriais realizados.

Seria igualmente censurável se apenas nos limitássemos a apoiar um método de luta biológica contra insectos nocivos, se não indicássemos quais os meios que deveriam ser empregados para conseguir os fins em vista. Por essa razão, achámos que devíamos referir neste capítulo a alguns processos de disseminação artificial de fungos entomógenos utilizados principalmente na Flórida onde,

QUADRO XII

COLECÇÃO I

Estufa a 22° C. MATERIAL Inoculação em 27-11-953

Ramos de *Nerium Oleander* L.								Ramos de *Raphyolepis Delacourii* André			
Coccus hesperidum L.				*Saissetia oleae* (Bern.)				*Ceroplastes sinensis* Guer.			
Instares	Indivíduos contados	Indivíduos parasitados	Mortalidade o/o	Instares	Indivíduos contados	Indivíduos parasitados	Mortalidade o/o	Instares	Indivíduos contados	Indivíduos parasitados	Mortalidade o/o
1.°	166	156	94	1.°	112	68	61,6	1.°	10	9	90
2.°	144	144	100	2.°	79	79	100	2.°	34	26	76
—	—	—	—	3.°	36	36	100	3.°	4	3	75
Adulto	20	20	100	Adulto	11	11	100	Adulto	1	0	0
Total. .	330	230	97	*Total* . .	194	194	82	*Total.* .	49	38	76

como já tivémos ocasião de apontar, as excepcionais condições climáticas de que desfruta, são segura garantia da sua aplicação [1].

Três sistemas podem ser seguidos visando o fim já apontado:

1) Aplicação do fungo tal como se apresenta na natureza.
2) Disseminação efectuada mediante pulverização de suspensões de esporos do fungo prèviamente cultivado em meios artificiais.
3) Misto.

Fazem parte do primeiro, a distribuição sobre os ramos de árvores que se pretendem tratar, de folhas em número de 6 a 12, infestadas de insectos atacados ou de pequenos troços (cerca de 10 cm) de ramos nas mesmas condições, que se colocam na parte superior das copas das árvores de modo a ficarem resguardados do sol. Em ambos os casos, o orvalho e a água das chuvas arrastam os esporos até aos pontos onde se encontram os insectos. Utilizando estes processos, não é necessário tratar de igual modo todas as árvores do pomar, visto que o fungo também se dissemina naturalmente.

Quanto ao segundo sistema, uma vez escolhido o meio gelosado mais favorável à esporulação do fungo (para o nosso caso a gelose de Dox), as culturas fazem-se de preferência em frascos de boca larga de 250 c. c. de capacidade. Quando num frasco a colónia estiver em condições de ser aplicada, retira-se por meio duma colher e lança-se num recipiente contendo um litro de água. Para se conseguir melhor desprendimento de esporos, agita-se durante algum tempo a suspensão e a seguir junta-se-lhe mais cinco a dez litros de água. A diluição assim obtida é filtrada através dum pano a fim de se obter uma suspensão de esporos livres de matérias estranhas, que se tornará a diluir de modo a obter 250 litros, isto é, a cultura dum frasco é suficiente para tratar 50 árvores, aplicando cinco litros da diluição em cada. Tratando-se de árvores muito desenvolvidas, bastará pulverizar uma faixa circular à altura de metade da copa; nas novas, a pulverização far-se-á proporcio-

---

1 Encontram-se referências a estes processos de disseminação artificial entre outros trabalhos, nos de MARCHIONATTO (1934) e STEINHAUS (1949).

nalmente à sua folhagem, podendo ser abrangida toda a copa. As pulverizações dirigem-se de preferência sobre os órgãos mais infestados e devem-se tratar de igual modo todas as árvores a fim de a acção do fungo se generalizar a toda a plantação, quando as condições atmosféricas lhe sejam favoráveis.

No Brasil, tanto o primeiro sistema como o segundo, têm sido aplicados com êxito na disseminação do *Cephalosporium lecanii* Zimm. contra o *Coccus viridis* (Green) infestando plantações de café.

Quanto ao sistema que nós chamamos misto, executa-se mediante a colheita de 25-50 folhas fortemente infestadas por insectos parasitados e que depois são lançados em dez litros de água, agitando durante cinco a dez minutos de modo a facilitar o desprendimento dos esporos. A suspensão depois de filtrada por um pano, fica pronta a ser aplicada por meio dum pulverizador nas mesmas condições que para os fungos cultivados artificialmente.

Dos sistemas de disseminação referidos, o primeiro é considerado o mais moroso, enquanto os restantes se caracterizam por maior eficácia e rapidez. De todos, porém, é sem dúvida o segundo, aquele que permite maior expansão.

Aconselha-se o emprego de pulverizadores de zinco em vez de cobre ou bronze, pois estes últimos podem alterar o poder germinativo dos esporos. Além disso, não se devem utilizar pulverizadores que tivessem já sido empregados com produtos fito-sanitários.

CAPÍTULO VI

Discussão

O nosso trabalho incidiu sobre um fungo entomógeno que Cancela da Fonseca (1951) havia referido como sendo o *Acrostalagmus albus* Preuss e da qual existiam duas culturas no Laboratório de Patologia Vegetal «Veríssimo de Almeida», conforme anteriormente esclarecemos.

As referências bibliográficas do *A. albus* eram escassas, mas as investigações de Petch (1925) sobre fungos parasitas de insectos, dão-nos valiosas informações para o conhecimento da espécie em estudo. Este autor relata que Penzig (1882) havia mencionado a

existência do *A. albus* Preuss sobre o *Lecanium hesperidum* infestando limoeiro na Itália, e que Saccardo reproduziu em Silloge Fungorum IV, p. 163, a descrição feita por Penzig. Petch porém contesta categòricamente que a espécie assinalada por Penzig seja a que Preuss descreveu pela primeira vez em 1851, tendo como *habitat* madeira apodrecida e considera esta, não uma espécie parasita de insectos, mas sim saprófita lenhícola. Cita ainda Berlese que supõe o *A. albus* como um estado conidial do saprófita *Melanospora globosa*. Pelas razões expostas e atendendo à autoridade que Petch possui sobre os problemas dos fungos entomógenos, admitimos com ele que o nosso fungo não deveria ser a espécie *albus*.

Antes de entrarmos na identificação do nosso fungo parasita, abordemos a posição sistemática dos dois géneros muito afins, o *Acrostalagmus* e o *Cephalosporium*. Petch distingue-os apenas por o primeiro apresentar conidióforos ramificados, e afirma que apesar de a maioria das espécies do segundo terem conidióforos simples, muitas há que os apresentam não só simples como também ramificados. Por outro lado, verifica-se que as espécies parasitas de insectos possuem conidióforos do tipo *Chephalosporium* e daí a preferência de Petch por este género, muito embora o *Acrostalagmus* tivesse sido criado anteriormente.

Ora, conforme notámos não só pela cultura do fungo em anel de Van Tieghem como pela observação microscópica directa do mesmo sobre o hospedeiro, apesar de em qualquer dos casos predominarem os conidióforos simples, no entanto existem também ramificados, assumindo por vezes o aspecto verticilado. Dum modo geral, os conidióforos simples estão situados a distâncias variáveis uns dos outros, vulgarmente solitários mas, por vezes, aos pares e até três juntos.

Por outro lado, a minuciosa descrição do referido autor acerca do *Cephalosporium (Acrostalagmus) lecanii* Zimm. sobre vários hospedeiros, condizia com os aspectos que já havíamos observado no nosso fungo parasitando algumas espécies de cochonilhas em Portugal. Com efeito, não tínhamos quaisquer dúvidas em concordar com a descrição sintomatológica que Petch transcreve de Parkin acerca do ataque no *Lecanium viride* [*Coccus viridis* (Green)], *L. hemisphaericum* [*Saissetia hemisphaerica* (Targ.)] e *L. nigrum* [*Saissetia nigra* (Nietn.)]: «The fungus shows itself to the naked

eye as a white or pale yellow powdery bloom around, and to some extent over, the scales. The powdery or mealy appearance is due to innumerable conidial heads covering the hyphae. The external part of the fungus develops as follows: Hyphae radiate out on all sides from below the scale for a milimetre or more over leaf surface».

Restava-nos, portanto, averiguar se os caracteres microscópicos também descritos, correspondiam aos observados por nós. Para isso, efectuámos medições do fungo, quer cultivado em gelose de Dox (utilizando anel de Van Tieghem), quer sobre a *Saissetia oleae* parasitada, incidindo aquelas sobre o comprimento dos conidióforos e respectivo diâmetro, dimensões dos conídios e diâmetro das cabeças conidiais. Efectuámos para cada caso vinte medições e estabelecemos os limites para os valores encontrados.

Embora os números indicados por Petch (1925) digam respeito ao mesmo fungo, mas sobre outras cochonilhas, a verdade é que os obtidos por nós sobre a espécie apontada, estão dentro dos limites citados por aquele autor. Do mesmo modo, também para o parasita cultivado em Dox, os nossos números são muito semelhantes aos mencionados para um meio de cultura que o referido autor não indica. Nos Quadros XIII e XIV apresentamos os valores que encontrámos e os indicados por Petch.

QUADRO XIII

DIMENSÕES DO *C. LECANII* SOBRE O HOSPEDEIRO (COCHONILHAS)

VALORES	CONIDIÓFOROS		CONÍDIOS
	Comprimento μ	Diâmetro μ	μ
De Petch	10-25	1,2-1,5	3,5-4 × 1,4
Nossos . . . . . . (Sobre *S. oleae*)	9-20	1,1-1,7	3,4-4 × 1,4

QUADRO XIV

DIMENSÕES DO *C. LECANII* EM CULTURA PURA

VALORES	CONIDIÓFOROS		CABEÇAS CONIDIAIS	CONÍDIOS
	Comprimento μ	Diâmetro μ	μ	μ
De Petch . . .	12-24	1,2	6-30	2,5-4 × 0,75-1,5
Nossos . . . . (Gelose de Dox)	10-25	1-1,4	6,3-7	2,5-4 × 1-1,7

Em face das razões expostas e principalmente porque todos os aspectos microscópicos descritos por Petch e outros autores são idênticos aos que observámos, estamos convencidos de que o fungo que caracteriza as Colecções I e II é o *Cephalosporium (Acrostalagmus) lecanii* Zimm.

Quando no Cap. II descrevemos a distribuição geográfica do fungo no País, a sua existência só foi comprovada em cinco províncias: em face disso, ocorre perguntar se será aí ùnicamente, que o fungo tem condições ambientais propícias à sua expansão. Quanto a nós, a omissão das restantes províncias nada significa, porquanto é nossa opinião que o fungo deve estar difundido por todo o País, podendo, no entanto, admitir-se que a sua eficácia varie consoante as regiões. Além disso, acreditamos que se não assinalámos noutras localidades a presença do *Cephalosporium lecanii* foi provàvelmente devido à falta de material pedido.

No Cap. III em *Material*, dissémos que todos os fungos isolados (pertencentes às Colecções I e II) eram idênticos, à excepção daquele que foi obtido do material açoreano e que diferia apenas nalguns aspectos. Cumpre-nos agora apresentar as razões do nosso ponto de vista.

As diferenças verificadas entre as Colecções I e II provêm, como dissémos, principalmente da coloração da colónia (em especial na gelose de Dox) que na I é branco-amarelada, enquanto a II se

apresenta duma grande alvura e com desenvolvimento micelial aéreo bastante compacto, além de possuir também menor número de esporos. Esta aparente diferença deriva de que as culturas que constituem a Colecção II foram obtidas em Novembro de 1949, isto é, três a quatro anos antes do que as componentes da Colecção I. Na verdade, as culturas antigas apresentam uma menor esporulação revelada pela sua brancura, enquanto que as de isolamento recente possuem uma coloração branco-amarelada conferida pela existência de abundantes cabeças conidiais que originam uma elevada quantidade de esporos. A bibliografia consultada sobre o *C. lecanii* confirma as nossas observações. Além disso, os reisolamentos obtidos a partir das cochonilhas inoculadas com as culturas da Colecção II acabavam por apresentar as características culturais da Colecção I, em virtude de serem mais jovens. Já na fase final do nosso trabalho conseguimos observar o inverso, quer dizer, as culturas I acabaram por se assemelhar às da II. E finalmente, observamos também que, por vezes, as culturas da Colecção I (branco-amareladas) exibiam sectores com os caracteres das culturas II (grande brancura). Portanto, pelas razões apontadas, consideramos as Colecções I e II, idênticas.

QUADRO XV

DIMENSÕES DOS FUNGOS REPRESENTATIVOS DAS ESTIRPES CONTINENTAIS (I E II) E AÇOREANA (III)

CULTURAS	CONIDIÓFOROS Comprimento μ	CONIDIÓFOROS Diâmetro μ	CABEÇAS CONIDIAIS μ	CONÍDIOS μ
Colecção I e II. . . (Estirpes continentais)	10-25	1-1,4	6,3-7	2,5-4 × 1,1-7
Colecção III. . . (Estirpe açoreana)	12-26	1,4-2,1	6,6-7,3	3,5-6 × 1,7-2,8

Quanto à cultura da Colecção III (estirpe açoreana), esta possuia em relacão às culturas I e II, mais rápido crescimento e micélio floconoso em meios artificiais, esporos ligeiramente maiores (Quadro XV) e conferia um aspecto sintomatológico diferente aos insec-

tos atacados que ficavam cobertos de micélio. Atendendo a estas diferenças que, na verdade, permitem distinguir perfeitamente esta estirpe da continental, somos levados a admitir a possibilidade de se tratar de espécies distintas, ou então, considerá-la talvez como uma variedade. De resto, não conseguimos encontrar na bibliografia consultada, sintomatologia e diagnose de um fungo que se ajustasse à cultura açoreana.

O ilustre e saudoso Prof. MANUEL SOUSA DA CÂMARA, que a nosso pedido se dignou observar os fungos em causa, considerou também idênticas as culturas das Colecções I e II e pareceu-lhe que a cultura da Colecção III poderia ser considerada uma variedade do *C. lecanii.*

Analisemos os resultados obtidos nas inoculações experimentais.

Se é certo que a experiência conduzida na estufa de incubação a 22° C. originou melhores resultados, são no entanto as duas primeiras efectuadas na estufa de campo que se aproximam mais das possibilidades do fungo entomógeno na natureza. Assim, se a humidade que criámos nos estufins não estava muito longe do óptimo requerido para a germinação dos esporos, já o mesmo se não pode dizer da temperatura que, conforme consta do Quadro VIII, está bastante distante da que permite maior desenvolvimento do fungo. As considerações que se seguem visam sobretudo os resultados das experiências conduzidas na estufa do campo. As percentagens de mortalidade das cochonilhas duma experiência em relação à outra são, dum modo geral, bastante semelhantes, pois apenas se verificaram algumas variações; compreende-se que assim tenha acontecido, uma vez que as condições de temperatura e humidade não foram perfeitamente constantes nos dois ensaios.

Com a Colecção II, que vimos ser idêntica à I, não conseguimos inoculações positivas para o *Ceroplastes sinensis;* para a Colecção I, embora as mortalidades totais alcançadas nas duas experiências não fossem muito elevadas (46,5 e 26 $^0/_0$), vincaram bem a sua virulência sobre o mesmo insecto. Por outro lado, a Colecção II revelou-se bastante virulenta para o *Coccus hesperidum* e *Saissetia oleae,* tendo num ensaio alcançado respectivamente sobre estas cochonilhas, as mortalidades totais de 43 e 41 $^0/_0$; para o outro, os valores registados foram de 39 e 66 $^0/_0$. Estes resul-

tados são, no entanto, modestos em relação aos obtidos com a Colecção I que para as mesmas cochonilhas causou respectivamente as mortalidades totais de 91 e 88 % numa das experiências e de 89 e 85 % na outra. Tais factos podem ser explicados pela diminuição de virulência do fungo da Colecção II, dado que foi o primeiro a ser isolado (em 1949) e pela sua manutenção contínua em meios artificiais de cultura ao longo de quatro anos.

Por último, os resultados obtidos com a Colecção III são, comparando-os com os alcançados para a Colecção I e para as mesmas cochonilhas, muito mais fracos (inoculações negativas para o *C. sinensis* e as mortalidades totais de 50 e 54 %, respectivamente para o *C. hesperidum* e *S. oleae* numa das experiências, e de 59 e 37 % na outra). A estirpe açoreana, em igualdade de condições com a estirpe continental I, apresenta não só uma virulência inferior como também tem o inconveniente de cobrir uma grande superfície infestada da planta, incluindo os insectos.

Resta-nos agora considerar a possibilidade da aplicação prática do *Cephalosporium lecanii* no País.

Não há dúvida que foram bastante satisfatórios os resultados alcançados com as inoculações. Porém, isto não basta para imediatamente nos convencer do seu êxito assegurado na prática, uma vez que as experiências se realizaram um tanto fora das condições naturais. Com efeito, embora a humidade não estivesse longe da requerida para uma rápida germinação dos esporos, a temperatura esteve muito aquém daquela que os ensaios laboratoriais efectuados dão como mais favorável ao desenvolvimento do fungo, pelo que poderemos considerar médias ou satisfatórias, as condições que rodearam as experiências.

Vejamos agora o problema à face da expansão natural do fungo através do nosso País.

A sua presença foi assinalada concretamente em cinco províncias, qualquer delas com características climáticas diferentes entre si. Encontrámo-lo em plena zona central do Alentejo (Vidigueira) onde são grandes as amplitudes térmicas ao longo do ano e muito pequena a pluviosidade atingida; numa região de Trás-os--Montes (Santo-Aleixo) caracterizada por baixas temperaturas e pluviosidade regular anual, e ainda em várias localidades da Estre-

madura, Ribatejo e Douro Litoral, onde a par de algumas disparidades, dum modo geral o clima se pode considerar mais propício à propagação do fungo. Não há dúvida que, em face desta distribuição, o fungo revela considerável poder de adaptação. Mesmo supondo que noutras localidades do País o fungo não esteja presente, julgamos que serão de esperar bons resultados com a sua disseminação artificial, visto que não existem piores condições do que as observadas nas províncias de Trás-os-Montes e Alentejo. O que haverá, evidentemente, é uma ou mais épocas favoráveis ou indicadas para a realização desta prática.

Além disso, parece-nos que se o fungo existe numa dada região embora sem carácter epidémico, o facto abona já as satisfatórias condições do meio para o seu desenvolvimento e, neste caso, é de esperar que o progresso normalmente lento da propagação natural do fungo, possa ser acelerado pelos métodos artificiais.

O êxito da disseminação artificial do fungo deve estar condicionado principalmente, pela existência dum período que deverá ser favorável não só para a germinação dos esporos e desenvolvimento do fungo, como também para a infecção, o que implica com o estado de vulnerabilidade do insecto. Esse período favorável não necessitará ser muito longo, porquanto nas nossas inoculações nos estufins, o período de incubação foi de cerca de cinco dias (14 dias para o *C. sinensis*). A eficácia da sua aplicação reside pois, na determinação da melhor oportunidade.

Julgamos que no nosso País, a Primavera e o Outono serão as estações mais propícias à sua disseminação artificial. Com efeito, é nestas épocas que esses insectos, dum modo geral, se encontram nos instares mais vulneráveis e ainda porque se verificam, no que respeita a humidade e temperatura, as condições mais favoráveis. As pulverizações com os esporos do fungo deverão ser realizadas em períodos de humidade relativa elevada. Não convém, como é evidente, que na altura da inoculação e nos poucos dias que se lhe seguem, haja tempo chuvoso, a fim de que se não dê o arrastamento dos esporos e comprometa a infecção dos insectos. Uma vez esta assegurada, os períodos chuvosos não muito intensos serão mesmo benéficos para a disseminação natural. As culturas destinadas a este fim deverão ter aproximadamente um mês de idade e ser de isolamento recente.

CAPÍTULO VII

Sumário e Conclusões

O nosso estudo incidiu sobre o fungo entomógeno *Cephalosporium lecanii* Zimm., um *Deuteromiceta* pertencente à ordem *Hyphales* e à família *Mucedinaceae*.

A revisão bibliográfica deste parasita permitiu-nos elaborar a sua distribuição geográfica, que se estende pelos cinco Continentes, além de mostrar que vinte espécies nocivas de insectos, todas pertencentes à ordem *Hemíptera* e à sub-ordem *Homóptera*, são dadas como muito susceptíveis àquele fungo. Estes insectos repartem-se por vinte e cinco espécies de plantas, algumas das quais de importantíssimo valor económico como os citrinos, a oliveira e o café. Dessas vinte e cinco plantas doze ficam assinaladas pela primeira vez, sendo dez no País e duas em S. Tiago de Cabo Verde (Quadro II).

Também se dá a conhecer o parasitismo do *C. lecanii* nas formas larvares do *Ceroplastes sinensis* Del Guer., o que até agora não foi apontado, e que os seus estados adultos são resistentes.

A partir de material colhido em diversas regiões do País e Ultramar, obtivémos culturas que distribuímos por três colecções. As Colecções I e II mostraram ser idênticas, enquanto a III foi considerada como uma possível variedade do *C. lecanii.*

Descrevemos a sintomatologia de quatro espécies de cochonilhas parasitadas (três no País e uma em Cabo Verde) e demonstrámos a presença do fungo nos seus tecidos internos mediante técnicas de coloração em cortes histológicos. Apresentámos uma hipótese explicativa da marcha da infecção, admitindo que o fungo perfurava o integumento e destruía totalmente os tecidos internos.

Para a *Saissetia oleae* (Bern.) verificámos que o fungo também ataca os ovos.

Os meios mais favoráveis ao crescimento são por ordem decrescente os seguintes: gelose de batata, de batata glucosada a 2 $^0/_0$, de feijão, de cenoura, de malte e de Dox, sendo em batata glucosada a 2 $^0/_0$ que o fungo manifestou maior desenvolvimento micelial aéreo.

A esporulação a 23°,5 C. é satisfatória em qualquer dos meios empregados, embora se verifique maior densidade de cabeças coni-

diais nos meios gelosados de Dox e malte, e em menor escala no de batata glucosada a 2 $^0/_0$. A temperatura a partir de 26° C. contraria extraordinàriamente a esporulação.

Quanto à influência da temperatura no crescimento do fungo, verificámos que o seu óptimo está próximo de 23° C. A acção letal da temperatura revelou-se mais eficaz quando exercida durante 24 horas a 36°,5 C., do que em 6 horas a 37°,5 C.

O fungo exige elevadas humidades relativas para que os seus esporos germinem. Enquanto para 100 $^0/_0$ de humidade relativa obtivémos 100 $^0/_0$ de esporos germinados ao fim de 91 horas, para 98,5 $^0/_0$ H. R. apenas alcançámos 88 $^0/_0$ e escassos 30 $^0/_0$ para 96,1 $^0/_0$ H. R., ao fim do mesmo período de tempo. Contudo, a mais rápida germinação (100 $^0/_0$ ao fim de 29 horas) teve lugar em suspensão aquosa.

As inoculações experimentais permitiram-nos tirar os seguintes resultados:

1.° — O *Coccus hesperidum* e a *Saissetia oleae* mostraram-se altamente susceptíveis ao *Cephalosporium lecanii*. O *Ceroplastes sinensis* tem menor susceptibilidade ao fungo que os insectos anteriores e não registámos infecção nos indivíduos adultos, aliás pouquíssimos no nosso material de ensaio.

2.° — A esporulação e a virulência diminuem com a idade dos isolamentos, não convindo os que tenham sido obtidos há mais de um ano.

3.° — A inoculação com culturas de 13 e 32 dias de idade, não afectou os resultados das respectivas experiências.

4.° — O *C. lecanii* isolado do material continental revelou sobre a estirpe obtida dos Açores a vantagem de possuir maior virulência.

5.° — Comportaram-se como imunes ao *C. lecanii*, tanto para estirpe continental como para a insular, as cochonilhas: *Aspidiotus hederae* Vallot, *Chrysomphalus dictyospermi* Morg. e *Lepidosaphes Beckii* New.

Após este estudo preliminar do *Cephalosporium lecanii*, julgamos sinceramente que a disseminação artificial deste fungo entomógeno oferece interessantes possibilidades entre nós, sendo da maior importância a determinação da melhor oportunidade da sua aplicação. Esperamos num futuro próximo estender os nossos ensaios às condições naturais.

Visando a futura aplicação do *C. lecanii* na luta biológica, sistematizámos e descrevemos os métodos de disseminação de fungos entomógenos empregados na Flórida.

Summary

The present paper deals with *Cephalosporium lecanii* Zimm., an entomogenous fungus of the Family *Mucedinaceae*.

A survey of the literature is given, including geographical distribution. The fungus is an important parasite of 20 species of undesirable Homoptera (mainly *Coccidae*) that attack 25 species of plants. Twelve of these are considered new host plants: 10 have been observed on the Portuguese mainland and 2 in S. Tiago (Cape Vert Islands). From material obtained from the Azores an isolate was obtained which may be considered a possible variety of *C. lecanii*.

The symtomatology of the parasitation on the following scale insects is described: *Ceroplastes sinensis* Del Guercio, *Coccus hesperidum* L., *Coccus viridis* (Green.) and *Saissetia oleae* (Bern.).

The presence of the parasite was demonstrated in their internal tissues and it is believed that penetration was made through the integument with subsequent total destruction of the tissues. In the cases of *Saissetia oleae* the eggs were also attacked.

The culture media tested were (in decreasing order of favourableness): potato, potato glucose 2 $^0/_0$, bean, carrot, malt and Dox agars.

Spore formation was very satisfactory at 23°,5 C., especially on malt and Dox agars but practically absent from 26° C. onwards. Optimum growth was obtained at 23° C. (temperatures tested were 12°,5, 21°, 23°, 24° and 26° C.). Spore germination required a very

high relative humidity (about saturation point); it was quickest in aquous suspension.

In experimental inoculations *Coccus hesperidum* and *S. oleae* were found to be extremely susceptible (97 $^{0}/_{0}$, and 88 $^{0}/_{0}$ mortality respectively); *Ceroplastes sinensis* showed a 78 $^{0}/_{0}$ mortality. These inoculations were carried out for each instar in triplicate, the above figures referring to averages of the most susceptible instar.

Freshly isolated cultures showed maximum spore formation and virulence which decreased considerably on subculturing (year old cultures producing a much lower mortality).

The mainland strain showed a much higher virulence than that from the Azores but both these strains were completely unable to attack the following scale insects: *Aspidiotus hederae* Vallot, *Chrysomphalus dictyospermi* Morg. and *Lepidosaphes Beckii* New.

Agradecimento

À memória do saudoso Mestre Manuel Sousa da Câmara, prestamos grata e sincera homenagem, pelo seu precioso apoio na identificação dos fungos que serviram de base ao nosso estudo.

Ao Exmo Sr. Professor Raúl Vasco de Garcia Cabral, Digníssimo Director do Laboratório de Patologia Vegetal «Veríssimo de Almeida», pela sugestão do tema e orientação do trabalho, bem como a inexcedível solicitude nas dificuldades deparadas, criterioso conselho e valiosos ensinamentos que nos prodigalizou, além das inúmeras facilidades concedidas no referido Laboratório.

Ao Exmo Sr. Professor Carlos A. Baeta Neves, pelo interesse que lhe mereceu o nosso trabalho.

Ao Exmo Sr. Engenheiro Agrónomo Jorge P. Cancela de Fonseca, pelo interesse e boa vontade com que sempre nos atendeu.

A todas as pessoas que também contribuíram para a sua realização, manifestamos a nossa profunda gratidão.

ESTAMPA I

Fig. 1 — *Ceroplastes sinensis*, sobre folha de *R. Delacourii*, parasitado nos primeiros instares pelo *Cephalosporium lecanii*. Inoculação experimental. Ampliada.

Fig. 2 — *Coccus hesperidum* e *Saissetia oleae*, sobre folha de *N. Oleander*, parasitados em alguns dos seus instares pelo *C. lecanii*. Ampliada.

Fig. 3 — Ataque natural do *C. lecanii* aos ovos de *S. oleae* adulta.

Fig. 4 — Aspecto característico do ataque da estirpe açoreana do *C. lecanii* às cochonilhas *C. hesperidum* e *S. oleae*, sobre folhas de *N. Oleander*.

Fig. 5 — Corte tangencial de *S. oleae* parasitada, em que se observa abundante micélio preenchendo as cavidades internas. (A escuro, o tecido animal). Ampliada 100 vezes.

ESTAMPA II

Aspectos assumidos pelas colónias do *C. lecanii* ao fim de 35 dias e a 21° C., nos seguintes meios gelosados:

Fig. 7 — Em gelose de batata.

Fig. 8 — Em gelose de batata glucosada a 2 $^{0}/_{0}$.

Fig. 9 — Em gelose de feijão.

Fig. 10 — Em gelose de cenoura.

Fig. 11 — Em gelose de malte.

Fig. 12 — Em gelose de Dox.

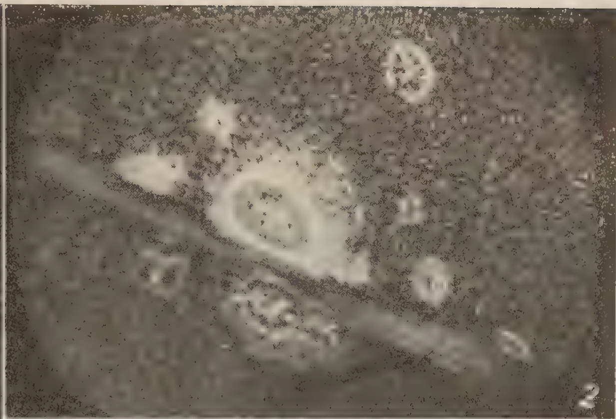
Fig. 13 — Aspecto microscópico do *C. lecanii* mostrando numerosos conidióforos suportando cabeças conidiais. (Cultura com 23 dias de idade mantida a 23°,5 C. sobre gelose de Dox em anel de Van Tieghem). Ampliada 600 vezes.

Fig. 14 — Idem em que se observam esporos constituintes das cabeças conidiais. Em contacto com gotículas de água, algumas cabeças encontram-se desfeitas.

Fig. 15 — Aspecto mais geral da Fig. 1.

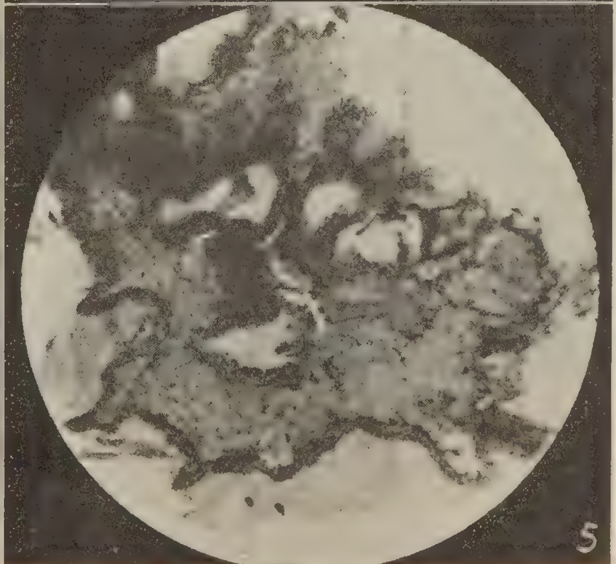
ESTAMPA I



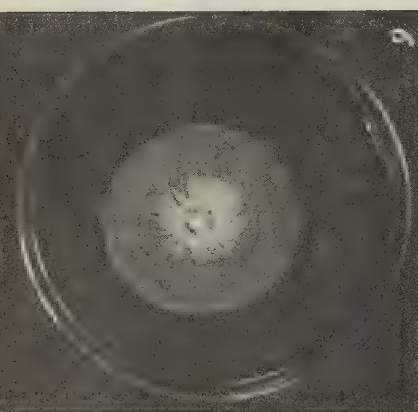


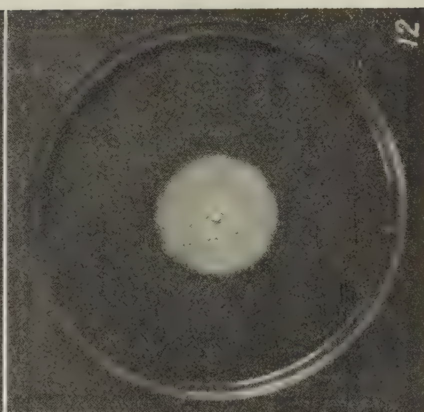


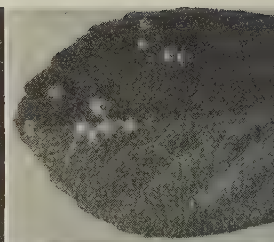


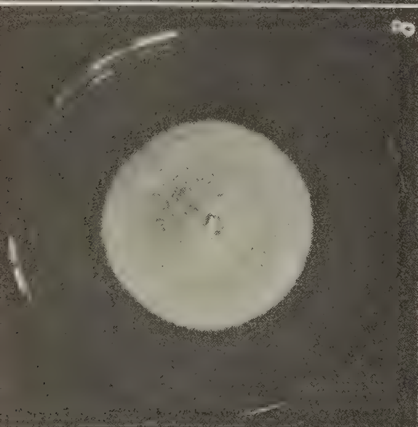


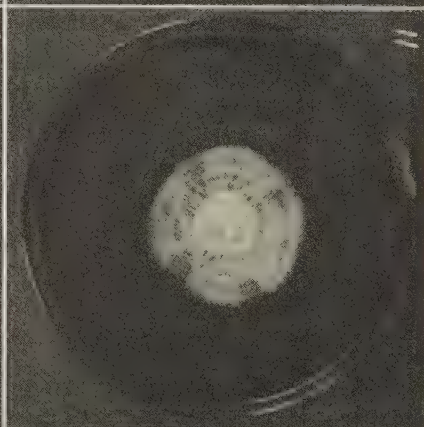
ESTAMPA II

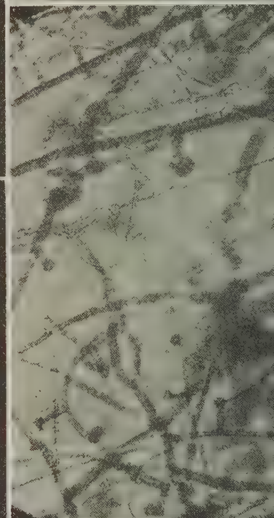


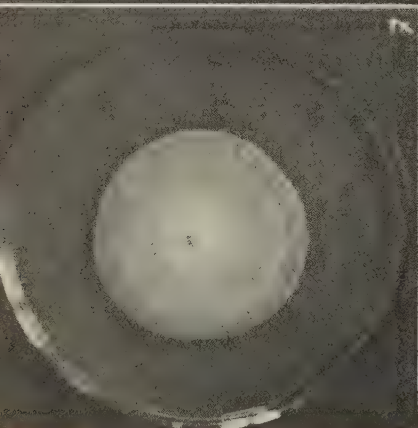


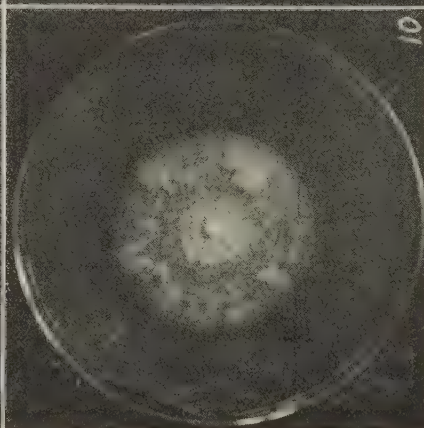


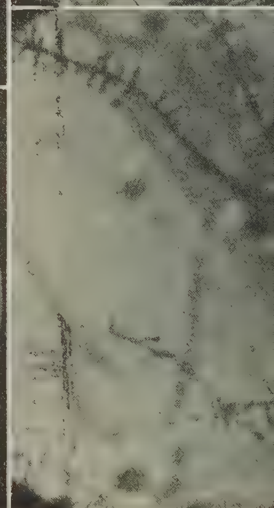












BIBLIOGRAFIA

BAETA NEVES, C. M. — Alguns aspectos ingratos no emprego dos insecticidas orgâ-
1951 nicos sintéticos. *Agros,* **34** : 211-230.

BLATTNY, C. — Parasitace puklice plisnemi na podzimu, 1937. *Ochr. Rost.,* XIV,
1938 55 pp. (Cit. *Rev. appl. Mycol.* **17** : 526).

CABRAL, R. V. DE G. — *Apontamentos de Patologia Vegetal.* Assoc. dos Estudantes
1951-52 de Agronomia, Lisboa.

CANCELA DA FONSECA, J. C. — *Contribuição para o estudo da Entomofauna dos*
1951 *citrinos em Portugal. Coccus hesperidum* L. Rel. Fin. do Curso de Eng.º Agrónomo.

CÁNOVAS, C. — *Aspectos de la Lucha Biológica en los Estados Unidos.* Est. Fitop.
1934 agric. Levante (Valencia-Burjasot), Madrid.

CELESTINO DA COSTA, A. e ROBERTO CHAVES, P. — *Manual de Técnica histológica.*
1943 Portugália Editora. Lisboa.

DOP, P. — Sur un noveau champignon, parasite des coccides du genre *Aspidiotus.*
1905 *Bull. Scient. de la France et Belgique,* **39** : 135. (Cit. Petch, 1925).

DUARTE FERREIRA, J. — Um fungo parasita da *Cydia Pomonella* L. — *Revista Agro-*
1943 *nómica,* **31** : 85-117.

ESSIG, E. U. — *College Entomology.* The Mac Milland Company — New-York.
1942

FAWCETT, H. S. — *Citrus diseases and their control.* Mc Graw — Hill Book Com-
1936 pany, Inc. — New-York and London. 2.ª Ed.

1948 — Biological control of Citrus insects by parasitic fungi and bacteria. *The Citrus Industry,* II, 1.ª Ed. Ed. by L. D. Bactchelor and. H. J. Wabber University of California Press. Berkeley and Los Angeles.

FORBES, S. A. — Experiments with the muscardine disease of the chinchbug and with
1896 the trap and barrier method for the destruction of that insect. *Ill. Agr. Exp. Sta. Bull.* **38** : 25-86. (Cit. Sweetman, 1938).

GILBERT, E. M. & KUNTZ, W. A. — Some diseases of *Aphis spiraecola* Petch. *Quar-*
1926 *terly. Bull. State Plant Board of Florida,* **10** : 1-6 (Cit. *Rev. appl. Mycol.* **5** : 552).

GUÉGUEN, F. — Les champignons parasites de l'homme et des animaux. *Bull. Soc.*
1906 *Mycol. Fr.* **22** : 254-264. (Cit. Petch., 1925).

IMMS, A. D. — *A General Text book of Entomology*. Methuen & C.º L.td, Fifth Edi-
1942 tion, London.

KRASSILTSCHIK, J. — De insectorum morbis qui fungis parasitis efficiuntur. *Mem.*
1886 *Soc. Nat. Nouv. Russie,* 97 pp. Odessa. (Cit. Sweetman, 1936).

1893 — La graphitose et la septicémie chez les insects, deux maladies des Lamellicornes causés par des bactéries. *Mem. Soc. Zoo. de Fr.* 245-285. (Cit. Sweetman, 1936).

LINDAU, G. — *Rabenhorst Krypt. Flora,* **8**: 100-101. (Cit Petch, 1925).
1904

MARCHIONATTO, J. B. — Algunos hongos entomogenos comunes en la Republica Ar-
1934 gentina y las possibilidades de su aplicacion agrícola. *Rev. Fac. Agron. y Vet.* **7**: 571-584.

1941 — *Acrostalagmus aphidum* hongo parásito de los pulgones. *Physis B. Aires* **19**: 51-54.

1945 — Nota sobre alguns hongos entomogenos. *Publ. misc. Minist. Agric. B. Aires,* Ser. A, 10 pp. (Cit. *Rev. appl. Mycol.* **25**: 262).

McCLELLAND, T. B. & TUCKER, C. M — Green scale, *Coccus viridis,* a new pest in
1929 Coffee and *Citrus*. *Agric. Notes, Porto Rico Agric. Exper. Stat., Mayaguez,* **48**: 2 pp. (Cit. *Rev. appl. Mycol.* **9**: 33).

METCHNIKOFF, E. — *Maladies des hannetons du blé (Anisoplia austriaca).* Odessa
1879 (Cit. Sweetman, 1936).

MOULT, LE — Le parasite du hanneton — *Compt. R. Acad. Sci. Paris,* **3**: 653;
1890-91 (Cit. Sweetman, 1926).

1912 — *De la destruction des insectes nuisibles par les parasites végétaux.* Bourges.

NIETNER, J. — *The Coffee tree and its enemies: being observations on the natural*
1861 *history of the enemies of the coffee tree in Ceilon.* (Cit. Petch, 1925).

NOGUEIRA, D. — *Zona de custos da Citricultura no concelho de Vidigueira.* Rel.
1953 Fin. do Curso de Eng.º Agrónomo.

NOLLA, J. B. A. — Biologic control of the aphids *Rhopalosiphum persicae* Sulzer and
1929 *Aphis gossypii* Glover. *Phytopath.* **19**: 1 p. 102.

1929 — *Acrostalagmus aphidum* Ond. and. Aphid control. *Journ. Dept. Agric. Porto Rico,* **13**: 59-72. (Cit. *Rev. appl. Mycol.* **8**: 641).

PARKIN, J. — Fungi parasitic on scale insects (Coccidae and Aleyrodidae); a general
1906 account with special reference to Ceylon forms. *Ann. Roy. Bot. Gard. Peradeniya,* **3**: 41-43. (Cit. Petch, 1925).

PAU-PRETO, A. J. — *Contribuição para o estudo da Entomofauna das oliveiras em*
1952 *Portugal. Saissetia oleae* (Bern.). Rel. Fin. do Curso de Eng.º Agrónomo.

PENZIG, O. — Funghi agrumicoli. *Ann. di Agric.* 116 (Cit. Petch, 1925).
1887

PETCH, T. — Studies in entomogenous fungi. VI. *Cephalosporium* and associated
1925 fungi. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* **10**: 152-182.

POSPELOFF, P. V. — Results of the work accomplished by the Laboratory for insect
1936 diseases in the development of a system for the microbiological control of harmful insects. *Summ. Sci. Res. Wk. Inst. Cl. Prct. Lenig.*, 318-321. (Cit. *Rev. appl. Mycol.* **16**: 37).

SEABRA, A. F. — Note sur l'importance des champignons entomophages dans l'agri-
1917? culture tropicale.

SIMÕES, F. A. — *Contribuição para o estudo em Portugal da «Saissetia nigra»*
1952 (Nietn.) Rel. Fin. do Curso de Eng.º Agrónomo.

SNOW, F. H. — Experiments for the destruction of chinck-bugs. *21 st. Rpt. Ent. Soc.*
1890 *Ontario*, 93-7.

SPEARE, A. T. — Natural control of the citrus mealy-bug in Florida. *Bull. U. S.*
1922 *Dept. Agric.*, 117, 19 pp. (Cit. Steinhaus, 1949).

STEINHAUS, E. A. — *Principles of Insect Pathology.* Mc Graw-Hill Book Company,
1949 Inc. New-York, Toronto and London.

SWEETMAN, H. L. — *The Biological Control of Insects.* Comstock Publishing Com-
1936 pany Inc. Itaca. New-York.

WATSON, J. R. & BERGER, E. W. — Citrus insects and their control. *Florida Univ.*
1937 *Agric. Ext. Bull.* 88-135 pp. (Cit. Fawcett, 1948).

VILAR, J. M. S. — *Subsídio para o estudo dos* Ceroplastes *spp. de Portugal.* Rel.
1950 Fin. do Curso de Eng.º Agrónomo.

ZIMMERMANN, A. — *Over een shimmelepedemie der groene huizen. Korte Berichten*
1898 *uit's Lands Plantentuin.* (Cit. Petch, 1925).

NIDO PENDULINO DE LA INDIA

POR

P. IGNACIO SALA CASTELLARNAU, S. J.

(Profesor de História Natural)



Durante nuestra estancia de tres años en las Islas de Bombay y Salsette, cubiertas de esbeltas palmeras, hemos encontrado muchos curiosos nidos, destacando entre ellos, uno muy llamativo, fabricado por el pájaro tejedor, **«Ploceus baya»,** llamado vulgarmente nido botella.

El tamaño del ave, color y hábitos sociales, son tan parecidos a los del gorrión, que la gente los toma como tales. En la época del celo, los machos son más vistosos por su plumaje amarillento.

Estos pájaros, no sólo viven y duermen muchos juntos, sino que también les gusta edificar sus nidos en un mismo árbol. Los árboles que escogen con preferencia para labrar estas aéreas viviendas, son las palmeras, y cuando no las hay, las construyen en árboles espinosos, como el Babul o el Bore, que crecen junto a una charca. Yendo en tren a Bassein, muchos veces hemos contemplado con fruición de naturalista, estos péndulos nidos.

El tejedor no es receloso como el gorrión. Convencido por su instinto, de las ventajas de su vivienda, la cuelga en sitio muy visible, aunque alto. Tanto por su construcción como por lo inaccesible de haberlo colocado en la punta de una rama de palmera, no tiene miedo a las ardillas, lagartos y serpientes que trepam por los árboles en busca de huevos y pajarillos. Si lo intentan sus enemigos, pronto serán derribados al agua o al suelo, por los furiosos picotazos de estas avecillas, que en tropel atacan a los asaltantes y allanadores de moradas ajenas.

Las fibras que suelen emplear para trenzar su nido, son de la planta elefantina, especie de anea: a veces emplean las de la caña de azúcar o cocotero. Practican con su pico una ranura y con destreza rasgan la hoja: asen luego con su pico el cabo de la hebra, y al echar a volar, sigue ésta y se desprende sin dificultad.

Unos cuantos de estos hilos, los retuercen en las extremidades de la rama, y alzan una columna, que al ensancharse por los lados, adquiere la forma de una retorta o campana, que será la cuna, y luego se prolonga en tubo, que será la entrada al amurallado edificio (Fig.).

En la misma fotografía se ve un nido más rústico, cuya construcción se ha abandonado, y sirve de vivienda y torreta de observación para los vigilantes machos. En la construcción del nido, interviene la pareja; el macho trae las hebras, y la compañera, usando su pico como una lanzadera, hace el tejido con su trama y urdimbre.

Para el reptil ratero, no es fácil entrar en este nido, mas el pájaro Baya, sabe penetrar sin dificultad en su morada. Esta obra arquitectónica nos demuestra la idea finalista que reina en los seres animados, en los dos primordiales instintos: reproducción y conservación de la especie. Bien dijo el profeta Daniel en su cántico al Señor, Creador de cielos y tierra: «Benedicite, omnes volucres caeli, Domino». Bendecid todas las aves del cielo, al Señor.

Vamos a exponer ahora unas cuantas curiosidades de estos maravillosos nidos. En primer lugar junto a la cuna, se encuentran unas bolas de arcilla. Los nativos con su fantasía oriental aseguran que la madre cada noche trae luciérnagas para pegarlas en el húmedo barro y así ilumina su lóbrega mansión. Esta leyenda ha sido rechazada por muchos ornitólogos, que han examinado de noche estos nidos, y allí no han visto ningún farol viviente, que con luz fría, como la del gas neón, ilumine el interior del nido.

Pero sigue en pie el enigma. ¿Porqué el pájaro pone pesas en su gigantesco nido? Huelga decir que este hecho tiene su finalidad. Según Jerdon, parece que sirve para contrarrestar la fuerza del viento, y que por ser tan ligero no se tambalee mucho y sufra detrimento el delicado tesoro del interior. Se ve que a la nidada de tres implumes pajarillos, no les irá bien el columpiarse en las horas de la refrescante brisa marina o un viento fuerte.

El ornitólogo E. Gill, da otra plausible explicación. Dice que este pájaro siempre pega la arcilla en el mismo sitio, a saber: en la parte superior del departamento ancho, destinado a los huevos. No es, pues, improbable que tal revoque, sirva para hacer la cuna

impermeable, pues, en Julio, a consecuencia de la monzón, los aguaceros son frecuentes. Además la pared está más firme y puede contrarrestar el peso de los polluelos, sin que las fibras cedan y se deforme el nido.

Otro problema que se ofrece al ornitólogo, es el de los nidos anormales que algunas veces tejen. Unos jóvenes indios, alumnos nuestros, nos trajeron dos de estos raros nidos adosados con el otro. La entrada tubular se ha prolongado un poco más, y a continuación, se ha tejido el segundo nido, que es tan perfecto como el de arriba.

Nuestros dos engarzados nidos, presentan otro tipo diferente de anomalia arquitectónica. En el de la parte superior hay una raja, indicio bastante probable de que albergó pajarillos; en cambio el de la parte inferior está entero y quizá fué construído para dar lugar a una segunda cría. El presente caso nos demuestra el prurito de tejer que tienen estos artífices de la fibra, y hace que a veces añadan apéndices innecesarios a su acabada obra.

Hay en la India, otras especies de estos pájaros, que edifican semejantes nidos pendulinos. Tales son: Ploceus manyar que anida en las provincias centrales: el P. phillipinus y el P. bengalensis, frecuentes en Delhi, capital de la gran república moderna.



Nido pendulino de *Ploceus baya*

BIBLIOGRAFIA

Collecting, Preparing and Preserving Insects. Compilado por BRYAN P. BEIRNE. Vol. 13. 21 cm., 133 págs. e numerosas gravuras. Editado por Science Service, Entomology Division, Canada Department of Agriculture, 1955.

Destinada tanto a profissionais como a amadores, esta utilíssima publicação da Secção de Entomologia do Departamento de Agricultura do Canadá, dá-nos valiosas indicações dos resultados experimentais dum grupo de autorizados especialistas.

Embora tendo em vista, dum modo especial, a fauna entomológica do Canadá, o livro será imensamente vantajoso para quantos queiram iniciar-se na prática deste ramo da cultura científica, e para os que apenas pretendem aperfeiçoar os próprios métodos, graças às sugestões pormenorizadas que se fazem ao longo das páginas bem condensadas deste manual.

Numerosas gravuras, realizadas com apreciável perfeição, elucidam as explicações do texto, contribuindo não pouco para a finalidade essencialmente prática de semelhante publicação, na qual os assuntos se acham distribuídos com muita ordenação em 4 Secções principais.

Ali encontrará o leitor métodos para fazer colheitas de Insectos, com a indicação dos meios apropriados para os matar; métodos de conservação e montagem, sem esquecer uma oportuna referência a preparações destinadas à observação microscópica; processo de acondicionamento e cuidados a ter com as colecções; a aplicação dos métodos gerais indicados às condições especiais dos distintos grupos de Insectos, e também ao caso de certos Aracnídeos e Nemátodos particularmente estudados no Departamento do Canadá.

Em apêndice final, indicam-se as fórmulas de mais ordinária aplicação na técnica entomológica.

J. CARVALHAES.

Condições de assinatura

Portugal, Império Colonial: Série de Cultura Geral, 100$00; Série de Ciências Naturais, 65$00. As duas Séries, conjuntas, 155$00. O pagamento pode fazer-se em duas prestações. Aos assinantes que não satisfizerem directamente a sua assinatura por todo o mês de Janeiro ou por todo o mês de Junho (2.ª prestação), ser-lhes-á remetido o recibo à cobrança, acrescido das respectivas despesas.

Brasil: Série de Cultura Geral, 120 crs.; Série de Ciências Naturais, 65 crs. As duas Séries, conjuntas, 175 crs.

Espanha: Série de Cultura Geral, 150 pesetas; Série de Ciências Naturais, 100 pesetas. As duas Séries, conjuntas, 240 pesetas.

Outros países: Série de Cultura Geral, 120$00; Série de Ciências Naturais, 80$00. As duas Séries, conjuntas, 190$00.

Números avulsos: Cultura Geral, 10$00; Ciências Naturais, 17$50.

Correspondentes da BROTÉRIA

Angola = *Manuel Bento Ribeiro* — Banco de Angola, Luanda.
Brasil = *P.e João Ferreira Rodrigues* — Colégio António Vieira, Bahia.
Espanha = *P.e Procurador de «Razón y Fe»* — Pablo Aranda, 3, Madrid.

Assinantes beneméritos da BROTÉRIA (*)

† *D. Joaquim Rodrigues Lima,* Arcebispo de Bombaim.
Sr. Francisco Tavares Proença, Castelo Branco.
Sr. Dr. Júlio de Melo e Matos, Porto.
Sr. Tito Lívio Lopes, Porto.
† *Sr. Dr. Sebastião dos Santos Pereira de Vasconcelos,* Porto.
Sr. Dr. José de Almeida Eusébio, Covilhã.
Sr.ª D. Amélia Capelo Franco, Capinha (Beira Baixa).
Sr. Dr. José Pequito Rebelo, Gavião (Alentejo). Especial benfeitor da *Brotéria.*
Sr. Bento de Morais Sarmento, Porto.
Sr. José da Fonseca Castel-Branco, Póvoa de Rio de Moinhos (Beira Baixa).
Sr. Dr. Gustavo Mathieu Snoeck, Bahia (Brasil).
Sr. Dr. Sebastião do Rosário Sarafana, Figueira da Foz.
Rev.º P.e Simon Tang, Schiu-Hing (Canton, China).
Sr. Dr. António J. de Almeida Coutinho e Lemos Ferreira, Porto.
Sr. Dr. José J. Andrade Albuquerque de Bettencourt, Ponta Delgada.
Sr. Dr. Nuno de Lacerda Ravasco, Moura (Alentejo).
Sr. Dr. Manuel Antunes Barradas, Vila Pery (Moçambique).
† *Rev.º P.e Torquato Cabral Ribeiro,* Colégio, Caldas da Saúde (Minho).
Rev.º P.e Camilo Torrend, Bahia (Brasil).
Rev.º P.e Francisco José Galvão, Braga.
Sr. José Maria de Proença de Almeida Garrett, Castelo Branco.
Sr. José Maria Ferreira Delgado, Vila Franca de Xira.
Sr. Dr. Domingos Megre, Águas (Beira Baixa).
Sr. António Augusto Nogueira da Silva, Porto.
Sr. José Coimbra Pacheco, Casa «Pafil», Porto.
D. João de Deus Ramalho, Bispo de Macau.
Sr. Dr. Alberto Martins, S. Paulo (Brasil).
Sr. Oscar César Santos Matos, Rio de Janeiro (Brasil).
Srs. Condes de Almoster, Cascais.
Sr. José Peixoto de Almeida, Nogueiró (Braga).
Sr.ª D. Maria Augusta Vieira, Barcelos.
Sr. João Duarte, Barcelos.

(*) São **beneméritos** da **BROTÉRIA** os assinantes que contribuem com uma ou mais prestações, no espaço de um ano, no valor de 5.000$00; têm jus a ser o seu nome publicado para **sempre**, em todos os fascículos desta Revista, e a receber a **BROTÉRIA**, sem mais pagamento durante a sua vida.